АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXI. ВЫП. 1

ЯНВАРЬ — ФЕВРАЛЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1952

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXI

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1952

О НАКОПЛЕНИИ БИОМАССЫ В КУЛЬТУРАХ СКЛАДЧАТОЙ ФОРМЫ SACCHAROMYCES CEREVISIAE

А. А. Имшенецкий

Изменчивость микроорганизмов — это область микробиологии, в которой особенно широкое распространение получили различные метафизические теории. Они тормозили развитие наших представлений об изменчивости микробов и мешали созданию молодой отрасли науки — селекции культурных и практически ценных рас микроорганизмов. В течение первых сорока лет нашего столетия изучение изменчивости микробов носило по преимуществу морфологический, описательный характер. Экспериментатора привлекала необычная окраска или внешний вид колонии, потеря таких свойств, как подвижность, образование спор и т. д. Большое внимание уделялось методам, позволяющим получать новые расы микробов, и их подробной морфологической характеристике. Что же касается физиологических и биохимических особенностей новых форм, то они или не изучались совершенно, или в этих исследованиях ограничивались только обычными микробиологическими методами: характер роста на обычных средах, разжижение желатины, рост на молоке и т. п. Естественно, что столь примитивные приемы не давали истинного представления о происшедших изменениях функции. Именно поэтому проблема изменчивости микробов была преимущественно морфологической, и исследователь почти не ставил перед собой задачу выяснить значение наблюдаемых изменений для жизни самого микроба. Вопрос о том, носят ли новые особенности биологии микроба приспособительный характер, обычно не затрагивался. Анализ наблюдаемых отклонений производился абстрактно, без учета взаимоотношений, существующих между микробами и внешней средой, и совершенно игнорировалось бесспорное положение, что получаемые расы микроорганизмов для более полной реализации своих новых свойств требуют и новых условий жизни. Как в описании выделенных рас, так и в изучении их свойств чувствовался штамп. Выйти за пределы общеупотребительных методов и стандартных приемов исследований обычно не решались. Этим и объясняется тот кризис, который переживала вся проблема в начале тридцатых годов. В дальнейшем положение усложнилось тем, что ряд видных формальных генетиков, начав исследования с микробами, с большой настойчивостью пытались перенести основные положения антиэволюционной теории гена на мир микроорганизмов.

Мало знакомые с фактическим материалом в области изменчивости микробов, сторонники морганизма сплошь и рядом сообщали о давно известных явлениях, а нередко допускали в своих работах и грубые ошибки. Достаточно указать на совершенно неприемлемые исследования Линдегрена. Одно из основных положений, защищаемых формальными генетиками, заключалось в том, что каждое свойство микроорганизма, по их мнению, контролируется определенным гипотетическим геном. Любая синтетическая реакция и даже отдельные ее этапы, так же как и различные проявления жизнедеятельности, могут изменяться независимо от других биологических процессов, происходящих в клетке. Представление о микробной клетке как о «мозаике признаков» получило свое развитие в исследованиях по генетике нейроспоры и дрожжей, и именно здесь была показана его абсурдность. Факты опровер-

гали правильность самой гипотезы, и для их объяснения понадобилось допустить столь значительное число исключений из общего правила, что метафизичность самой теории стала очевидной. Прекрасным примером, иллюстрирующим ненаучность генной теории, может служить тот факт, что, судя по литературным данным, культурные расы пенициллa, образующие значительные количества пенициллина, отличаются от дикой формы по целому ряду как морфологических, культуральных, так и физиологических признаков. Следовательно, как правило, при изменчивости микроба изменению подвергается не одно какое-либо свойство, а весь тип развития микроорганизма. Это положение, полностью соответствующее основным принципам советского творческого дарвинизма, открывает широкие возможности и перед исследователем, разрабатывающим научные основы селекции микроорганизмов. Установив коррелятивную зависимость между морфологическими и функциональными особенностями у определенных рас, он может использовать при отборе ряд фенотипических признаков, так мало ценимых в исследованиях такого рода формальными генетиками.

Факты, описанные в этой работе, должны показать, что между морфологией клеток и структурой колонии, с одной стороны, и физиологией дрожжей — с другой имеется тесная связь. Далее в этих исследованиях имеются опыты, доказывающие, что для выявления новых свойств необходимо отказаться от стандартных методов исследований, а искать те условия жизни, которые необходимы для более полной реализации этих новых особенностей обмена веществ.

Экспериментальная часть

Методика

Исследования были проведены с дрожжами (Saccharomyces cerevisiae), ростовская пекарская раса [1]. Культура была получена из музея Всесоюзного научно-исследовательского института спиртовой промышленности и затем выделена из одной клетки. В дальнейшем при осмотре пробирки с культурой, выросшей на скошенном сусло-агаре, обращало на себя внимание, что штрих имел складчатый характер. При помощи рассевов этой культуры на чашках Петри с сусло-агаром и последующих отсевов из вырастающих колоний были получены: гладкая раса, обозначаемая в дальнейшем исходной, и типичная складчатая раса, образующая характерные складчатые колонии. Эта раса ниже будет называться раса $АН_2$. При дальнейших пересевах раса $АН_2$ оказалась исключительно устойчивой и не возвращалась к исходной культуре. Этого нельзя было сказать об исходной гладкой форме, которая при пересевах нередко становилась сначала слабо складчатой, а затем складчатый характер роста все усиливался. Поэтому для сохранения гладкой расы приходилось периодически производить ее рассев и отбор наиболее типичных гладких колоний. При выяснении скорости размножения дрожжей их культивирование производилось в одной серии опытов в колбах Эрленмейера емкостью в 250 мл, содержащих сусло 7° Балг., налитое слоем высотой 3 см. В другой серии опытов дрожжи размножались в жидкой среде, которая аэрировалась. Выращивание в этом случае производилось в стеклянном тонкостенном широком цилиндре, у дна которого был впаян пористый стеклянный фильтр. Дно цилиндра сужалось и переходило в стеклянную трубку, присоединяемую при помощи каучуковой трубки к склянкам Тищенко, содержавшим последовательно серную кислоту и воду для освобождения проходящего воздуха от микробов. В верхней части цилиндра имелось расширение, предохраняющее жидкость, содержащуюся в цилиндре, от выбрасывания, особенно в том случае, если жидкость слишком пенится при аэрации. Верхняя открытая часть цилиндра закрывалась каучуковой пробкой, через которую проходила стеклянная трубка. Последняя присоединялась к водоструйному насосу. В этот прибор наливалась жидкая питательная среда: пивное сусло 7° Балг. или меласса, к которой после ее разведения добавлялся сернокислый аммоний и фосфорнокислый калий в количествах, обычно применяемых для этих целей на дрожжевых заводах. Высота столба сусла или мелассы равнялась 20—25 см. В жидкую среду вносилась взвесь клеток дрожжей, приготовленная на пивном сусле. После посева прибор помещался в термостат при 25° и выращивание

[1] В исследованиях участвовала старший лаборант Института микробиологии Академии Наук СССР К. З. Перова. Пользуюсь случаем выразить ей благодарность.

дрожжей в аэрируемой жидкости продолжалось в течение восьми часов. С целью получить наиболее достоверные данные определение урожая клеток производилось двумя методами. Определялось количество клеток, содержащихся в культуральной жидкости, путем их подсчета в счетной камере. Второй метод заключался в определении веса выросших дрожжевых клеток. Для этого культура дрожжей фильтровалась через стеклянный, предварительно взвешенный фильтр, который после длительного высушивания снова взвешивался — эти два метода дополняли друг друга. Что касается отдельных методических приемов, то описание их будет дано при описании опытов.

Культивирование дрожжей в колбах с пивным суслом

В колбы с суслом был произведен посев исходной гладкой расы Saccharomyces cerevisiae и расы $АН_2$. В первой серии опытов определение веса урожая производилось ежедневно в течение шести дней после посева. Эти опыты выяснили, что уже на третий день вес урожая достигает своего максимума, а на пятый и шестой день вес клеток даже несколько уменьшается, по-видимому за счет наступающего лизиса. Этот опыт выяснил, что скорость нарастания биомассы у исходной расы и расы $АН_2$ одинакова (табл. 1). В связи с этим во второй серии опытов определение урожая производилось только на четвертый день культивирования. В этих опытах вес урожая клеток расы $АН_2$ и исходной культуры дрожжей также был одинаковым (табл. 1).

В дальнейшем эти опыты были повторены, но заключение об урожае делалось не весовым методом, а на основании подсчета дрожжевых клеток. Количество клеток определялось на четвертый и шестой день выращивания. Условия культивирования были те же, что и в предыдущих опытах. Результаты этих исследований представлены в табл. 2.

Мы видим, что в 1 мл культуральной жидкости содержится

Таблица 1

Вес клеток исходной культуры Saccharomyces cerevisiae и расы $АН_2$. Культивирование в колбах (сусло 7° Балг.)

№ опыта	Возраст культуры в днях											
	1		2		3		4		5		6	
	исходная	$АН_2$	исходная	$АН_2$	исходная	$АН_2$	исходная	$АН_2$	исходная	$АН_2$	исходная	$АН_2$
1	0,1284	0,1344	0,3972	0,4014	0,3888	0,4182	0,3459	0,4074	0,3504	0,3790	0,3674	0,3432
	0,1580	0,1400	0,4018	0,4141	0,4018	0,4386	0,3704	0,4028	0,3394	0,3612	0,3310	0,3800
Среднее	0,1432	0,1372	0,3995	0,4082	0,3853	0,4284	—	—	0,3449	0,3701	0,3392	0,3616
2	—	—	—	—	—	—	0,3569 0,3534	0,3523 0,3708	—	—	—	—
Среднее	—	—	—	—	—	—	0,3566	0,3833	—	—	—	—

различное количество дрожжей. В культуре исходной расы оно выше и колеблется от 81,6 до 85,9 млн. В культуре складчатой расы $АН_2$ количество клеток значительно меньше и равно 58,2—59,3 млн. в 1 мл. Эти цифры противоречили результатам, полученным при помо-

Таблица 2

Количество клеток исходной культуры Saccharomyces cerevisiae и расы $АН_2$ в 1 мл. Культивирование в колбах (сусло 7° Балг.)

№ опыта	Возраст культуры			
	4 дня		6 дней	
	исходная	$АН_2$	исходная	$АН_2$
1	82 000 000	56 000 000	80 800 000	59 200 000
	82 000 000	60 000 000	82 400 000	57 200 000
2	88 000 000	58 000 000	—	—
	91 200 000	63 200 000	—	—
Среднее . . .	85 900 000	59 300 000	81 600 000	58 200 000

щи весового метода и говорившими о том, что вес урожая у обеих рас был одинаковым. Однако это противоречие оказалось кажущимся, как только были получены данные о величине дрожжевых клеток у изучавшихся рас дрожжей.

Величина и форма клеток

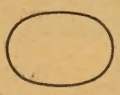
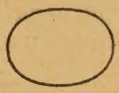
Как уже указывалось, раса $АН_2$ была типичной складчатой расой. Эти расы уже много раз получались экспериментально, и их морфологические особенности хорошо известны. Так как морфология клеток складчатой расы имеет непосредственное отношение к вопросу об урожайности этой расы, считаем необходимым кратко на ней остановиться. Клетки исходной гладкой расы имеют яйцевидную или округлую форму и, почкуясь, располагаются по две-три клетки вместе. Для гладкой формы не характерно образование фигур почкования, состоящих из четырех-шести и более клеток. Такие цепочки клеток и фигуры почкования, которые за свое отдаленное сходство с молодой елью иногда обозначают «елочками»,— одна из наиболее типичных особенностей складчатой расы $АН_2$. Клетки этой расы имеют не яйцевидную, а овальную или удлиненную форму. Не останавливаясь детально на описании морфологии клеток складчатой и гладкой рас, так как в дальнейшем этому будет посвящено специальное сообщение, сошлемся на рис. 1, 2, 3, 4, на которых воспроизведены микрофотографии клеток складчатой и гладкой рас. Эти рисунки убеждают в существовании резких отличий в морфологии клеток.

Для определения урожая клеток большое значение имели их размеры. Соответствующие измерения клеток, произведенные при помощи винтового микрометра, выяснили, что клетки расы $АН_2$ (складчатой) всегда крупнее, чем клетки исходной гладкой расы. Измерению подвергались дрожжи, выросшие на поверхности сусло-агара или в пивном сусле, налитом в колбу, а также дрожжи, размножавшиеся в сусле при

сильной аэрации среды. Во всех случаях клетки исходной расы были меньше, и, следовательно, экспериментально полученная раса $АН_2$ может быть названа крупноклеточной. Абсолютные размеры клеток приведены в табл. 3. В этой же таблице схематично в виде силуэтов изображены контуры клеток исходной расы и расы $АН_2$. Интересно, что размеры клеток гладкой расы изменяются в зависимости от условий

Таблица 3

Средняя величина и объем клеток у исходной формы Saccharomyces cerevisiae и расы $АН_2$

Условия культивирования	Возраст культуры, в час	Исходная форма	Раса $АН_2$
Сусло-агар	24	размер 5,25 μ × 7,08 μ  объем 102,56 μ^3	5,34 μ × 9,5 μ 141,80 μ^3
Пивное сусло (7° Балг.)	72	размер 4,96 μ × 6,22 μ объем 80,08 μ^3	4,58 μ × 8,16 μ 89,59 μ^3
Пивное сусло (7° Балг.) (с продуванием воздуха)	8	размер 4,62 μ × 5,66 μ объем 63,27 μ^3	5,03 μ × 7,12 μ  94,64 μ^3

культивирования. Клетки, выросшие на поверхности сусло-агара, крупнее, чем клетки, размножавшиеся в сусле даже при продувании воздуха. Такое же точно влияние оказывает способ выращивания и на величину клеток расы $АН_2$. Однако все это не изменяет основного вывода, что клетки складчатой расы, несомненно, крупнее. Произведя соответствующие вычисления, можно получить данные об объеме клеток. Цифровой материал, подтверждающий, что клетки расы $АН_2$ имеют значительно больший объем, чем клетки исходной гладкой расы, также приведен в табл. 3. Для наглядности соотношение между объемами клеток исходной расы и расы $АН_2$ изображено в виде диаграммы (рис. 5). Мы видим, что объем дрожжей у складчатой расы гораздо выше. Результаты измерений клеток объясняют нам то противоречие, которое было получено при определении урожая весовым методом и методом подсчета дрожжевых клеток. В культурах расы $АН_2$ клеток значительно меньше, но так как они крупнее, вес урожая у обеих рас одинаков. Эти данные убеждают в том, что изучение процесса размножения дрожжей при помощи только одного метода невозможно.

Изучение морфологии клеток складчатой расы позволяло провести некоторые аналогии между этой расой и другими дрожжевыми и дрожжеподобными организмами. Обращала на себя внимание удлиненная форма клеток у расы $АН_2$, столь часто наблюдающаяся у дрожжепо-

добных организмов, обладающих энергичным дыханием. Образование фигур почкования, напоминающих «елочки», также явление нередкое среди дрожжевых и дрожжеподобных культур, сравнительно мало активных в бродильном отношении, но хорошо окисляющих различные органические соединения. Возникновение сложных фигур почкования, состоящих из вытянутых в длину клеток, обычно наблюдается у организмов, относящихся к Mycotorula, Mycoderma, а также к некоторым, так называемым «пленчатым» дрожжам, образующим пленки на поверхности жидкой среды. Между способностью культур вызывать окисление различных соединений и образованием пленки на поверхности среды существует закономерная связь не только у грибов, но и у бактерий. Это один из немногочисленных пока хороших примеров единства морфологических и физиологических изменений, связанных с экологией микробов. В связи с этим наше внимание привлекло то обстоятельство, что раса $АН_2$ развивалась не только в глубине жидкой среды, но и на границе жидкости, образуя на внутренней поверхности пробирки небольшое колечко. Образование последнего всегда говорит о большей аэробности культуры. В противоположность этому исходная раса не давала кольца и развивалась только в глубине жидкой среды. Таким образом, культуральные особенности и морфология клеток позволяли предполагать, что раса $АН_2$ отличается от исходной расы своей способностью расти в менее восстановленных условиях. С целью проверить это предположение были проведены опыты по культивированию дрожжей в жидкой среде с продуванием воздуха и на поверхности плотной среды. Помимо этого были проведены наблюдения под контролем глаза над отдельными почкующимися клетками дрожжей.

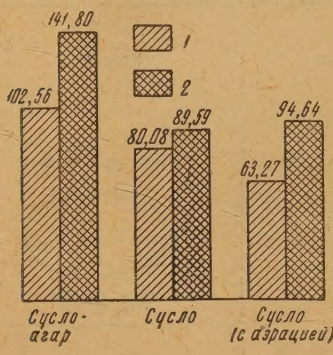
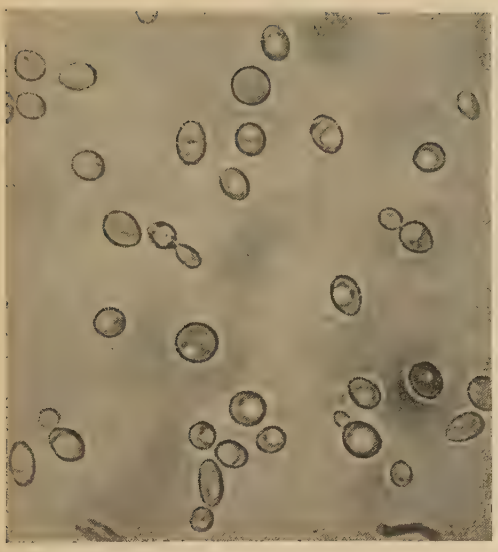


Рис. 5. Объем клеток исходной культуры S. cerevisiae и расы $АН_2$ при различных условиях культивирования: *1* — исходная культура; *2* — раса $АН_2$

Вес гигантских колоний

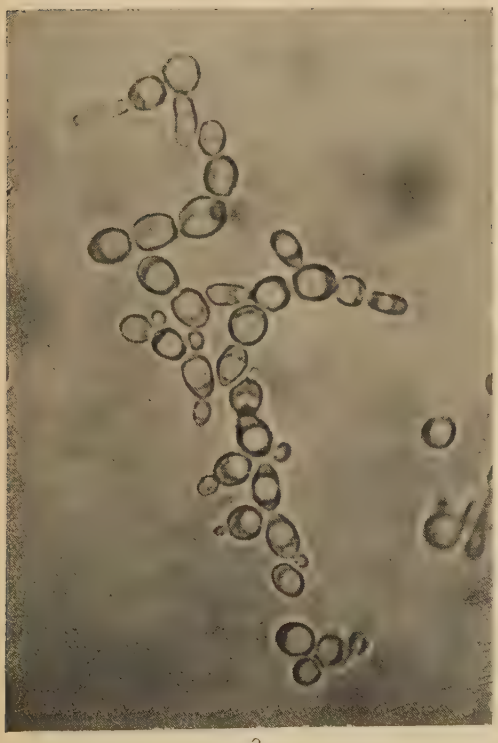
В серию чашек Петри, имеющих строго одинаковый диаметр, было налито одинаковое количество сусло-агара. В часть чашек была посеяна раса $АН_2$, в другую часть — исходная культура. Посевной материал наносился в центр агаровой пластинки. Чашки помещались в термостат при 25°. Через 4, 8 и 12 дней определялся вес гигантских колоний. Для этого гигантские колонии при помощи большой петли и небольшого количества воды тщательно отделялись от поверхности агара и взвесь клеток фильтровалась через стеклянный фильтр. В дальнейшем вес высушенного осадка дрожжевых клеток определялся путем повторного взвешивания фильтра. Для большей доказательности определялся суммарный вес трех гигантских колоний, что достигалось фильтрацией жидкости, содержащей взвесь клеток, полученных от трех колоний. Параллельно с выяснением веса гигантских колоний измерялся также их диаметр. Цифровой материал, относящийся к этим опытам, представлен в табл. 4.

Первый и наиболее существенный вывод, который необходимо сделать, заключается в том, что гигантские колонии расы $АН_2$ обладают гораздо бо́льшим весом. Если вес колоний исходной расы принять за 100%, то вес колоний расы $АН_2$ на 8—12-й день равен 192,5—194,0%, т. е. почти в два раза выше. Скорость роста гигантских колоний расы $АН_2$ в параллельных опытах неодинакова. В первом опыте колонии



1

2



3

4

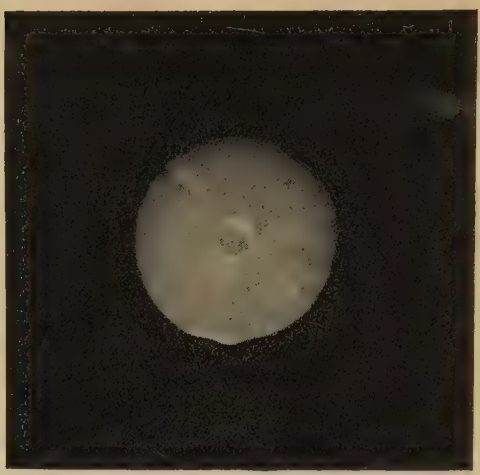
Рис. 1. Клетки исходной культуры Saccharomyces cerevisiae. Культура на пивном сусле. Возраст культуры — 48 часов

Рис. 2. Морфология клеток исходной культуры Saccharomyces cerevisiae в 48-часовой культуре на сусло-агаре. Клетки несколько удлиненной формы по сравнению с клетками, размножающимися в сусле

Рис. 3. Образование фигур почкования клетками расы $АН_2$ в жидкой культуре на пивном сусле. Возраст культуры — 48 часов

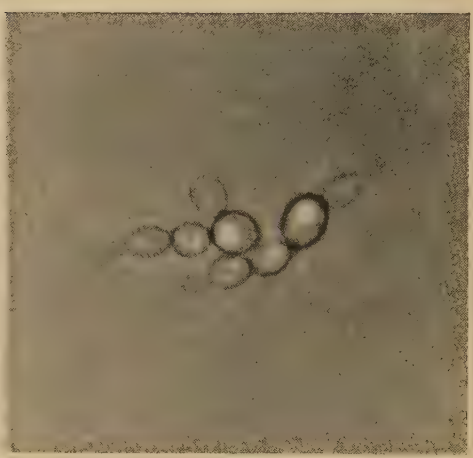
Рис. 4. Короткие цепочки клеток и фигуры почкования в культуре расы $АН_2$, выросшей на сусло-агаре. Возраст — 48 часов

6

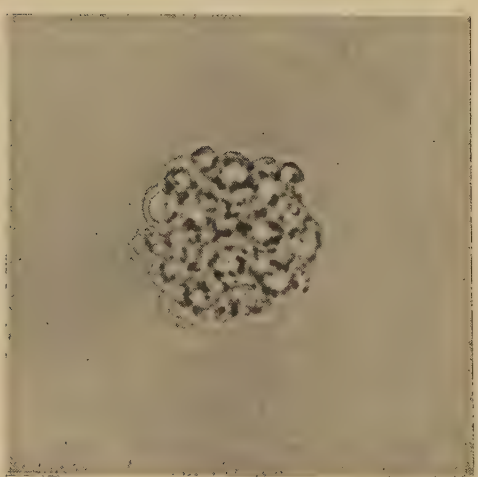


7

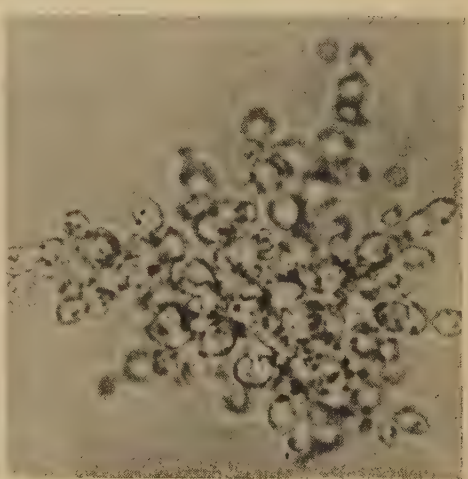
8



9



10



11

Таблица 4

Вес гигантских колоний исходной культуры Saccharomyces cerevisiae и расы $АН_2$ на сусло-агаре

№ опыта	Возраст колоний (в сутках)	Вес колоний в г		Вес колоний в %		Диаметр колоний в мм	
		исходная раса	раса $АН_2$	исходная раса	раса $АН_2$	исходная раса	раса $АН_2$
1	4	0,0362	0,0390	100	108,0	—	—
2		0,0229	0,0395	100	172,5	9	14
1	8	0,1244	0,1422	100	114,3	20	27
2		0,0654	0,1274	100	194,0	15	24
1	12	0,1223	0,2424	100	192,5	23	37
2		0,1472	0,2227	100	150,0	22	35

росли быстрее и разница в весе между ними и колониями исходной расы уже была резкой на 4—8-й день. Во втором опыте эта разница стала более отчетливой позже — на 12-й день. Такое расхождение в темпах роста, не меняющее общей закономерности накопления большего урожая у расы $АН_2$, обычно зависит от большей или меньшей влажности агара и колебаний в составе пивного сусла, приготовленного в различное время. Что касается диаметра гигантских колоний, то у расы $АН_2$ он также был всегда больше и на 12-й день равнялся 35—37 мм (рис. 6). Гигантские колонии исходной расы такого же возраста имели диаметр только 22—23 мм (рис. 7). Таким образом, клетки расы $АН_2$, размножаясь на поверхности плотной среды, при свободном доступе воздуха почкуются гораздо скорее и накапливают в колониях больше биомассы, чем клетки исходной расы.

Скорость почкования

С целью подтвердить данные, полученные при определении веса гигантских колоний, была произведена микроскопия почкующихся клеток. Для этого взвесь клеток в сусло-желатине наносилась очень тонким

Рис. 6. Складчатая гигантская колония расы $АН_2$. Сусло-агар. Возраст колонии 10 дней. Диаметр складчатой колонии больше, чем диаметр колонии исходной гладкой формы (рис. 7)

Рис. 7. Гигантская колония исходной гладкой формы Saccharomyces cerevisiae. 10-дневная колония на сусло-агаре

Рис. 8. Почкование двух клеток исходной расы Saccharomyces cerevisiae привело к образованию двух новых клеток. Продолжительность наблюдения — 5 час. 30 мин. Размножение в тонкой пленке сусло-желатины при 30°

Рис. 9. Размножение почкованием двух клеток складчатой расы $АН_2$ привело к появлению восьми молодых клеток. Срок опыта — 5 час. 30 мин. Почкование дрожжей происходило при 30° в тонкой пленке сусло-желатины

Рис. 10 Микроколония исходной гладкой формы Saccharomyces cerevisiae, выросшая в пленке сусло-желатины. Возраст микроколонии — 24 часа

Рис. 11. Микроколония складчатой расы $АН_2$. Сусло-желатина. Возраст 24 часа. Колония больше, чем колония исходной формы, и ее края неправильной формы

слоем на поверхность покровного стекла. Последнее помещалось на предметное стекло с луночкой. Непосредственное наблюдение за клетками выяснило, что клетки расы $АН_2$ почкуются скорее, а возникающие из клеток микроколонии у расы $АН_2$ крупнее, чем у исходной формы. У одиноко располагающихся дрожжевых клеток почкование начинается через три-четыре часа после приготовления препарата. У исходной формы за этот срок образуется две-три клетки (рис. 8), а через восемь часов от начала опыта количество клеток еще удваивается. Дрожжи расы $АН_2$ почкуются энергичнее, и число клеток, происшедших от материнской, за эти сроки приблизительно в два раза больше. Сравнение рис. 8 и 9 дает представление о скорости почкований той и другой культуры. При почковании клеток расы $АН_2$ образуются фигуры почкования, так как дрожжевые клетки сохраняют между собой связь. Микроколонии, возникающие в препарате из отдельных клеток, также резко отличаются по своей морфологии. У исходной культуры микроколония небольшая, компактная, шаровидная, с относительно гладкими контурами, как это видно на рис. 10. Микроколония того же возраста у расы $АН_2$ имеет совершенно иной характер. Она гораздо крупнее, ее очертания неправильные, звездчатые, так как ее периферические части состоят из цепочек клеток или фигур почкования. Края колонии имеют более рыхлый вид (рис. 11). Следовательно, результаты микроскопии убеждают в том, что клетки исходной культуры почкуются медленнее, чем клетки расы $АН_2$.

Культивирование в жидкой среде с продуванием

Более быстрый рост расы $АН_2$ в аэробных условиях побуждал провести опыты по выращиванию этой расы в жидкой среде при продувании воздуха через среду. Условия исследований были описаны в разделе, посвященном методике. В первой серии опытов урожай определялся путем подсчета дрожжевых клеток. Количество клеток определялось непосредственно после внесения их в среду и вторично в конце опыта, т. е. после восьмичасового продувания воздуха через среду. Результаты этих опытов приведены в табл. 5.

Таблица 5

Количество клеток исходной культуры Saccharomyces cerevisiae и расы $АН_2$ (в 1 мл). Культивирование в течение 8 часов на сусле при продувании воздуха

№ опыта	Исходная культура		Раса $АН_2$	
	количество клеток до продувания воздуха	количество клеток после продувания воздуха	количество клеток до продувания воздуха	количество клеток после продувания воздуха
1	7 080 000	125 000 000	6 640 000	125 000 000
2	2 800 000	50 000 000	2 680 000	61 600 000
3	2 800 000	56 800 000	3 200 000	60 000 000
Среднее . .	4 227 000	77 470 000	4 173 000	82 220 000

Мы видим, что при аэрации жидкой среды клетки расы $АН_2$ размножаются скорее. Исходное количество клеток составляло около 4 млн. в 1 мл. Через 8 часов у расы $АН_2$ в 1 мл было 82 млн., т. е. в 40 раз больше. У исходной расы размножение происходило менее интенсивно и в 1 мл содержалось 77,5 млн. клеток, т. е. на 5 млн. меньше, чем у расы $АН_2$. Однако эти опыты не могли выяснить действительной разницы в скорости синтетических процессов, в скорости образования протоплазмы дрожжевой клетки. Как уже указывалось ранее, клетки расы $АН_2$ значительно крупнее и объем их значительно больше. Следовательно, подсчет клеток не мог выявить различий, существующих между культурами. Можно было только утверждать, что если клетки расы $АН_2$ больше (как это было установлено ранее), то, учитывая их больший объем, вес биомассы в культуре расы $АН_2$ должен значительно превосходить вес биомассы исходной формы дрожжей. Для выяснения этого вопроса была поставлена вторая серия опытов, в которых в конце опыта определялся вес урожая. В остальном условия опытов были те же, что и в первой серии.

Данные этих опытов приведены в табл. 6.

Таблица 6

Размножение клеток исходной культуры Saccharomyces cerevisiae и расы $АН_2$ на жидких средах при продувании воздуха

№ опыта	Питательная среда	Вес урожая в г		Вес урожая в %	
		исходная раса	раса $АН_2$	исходная раса	раса $АН_2$
1	Пивное сусло (7° Балг.)	0,1120	0,1887	100	168,4
2	То же	0,1420	0,2380	100	167,6
3	То же	0,1005	0,2072	100	206,0
4	Меласса	0,1780	0,2980	100	167,4
				Среднее . .	177,2%

Результаты этих опытов полностью подтвердили наше предположение о том, что раса $АН_2$ отличается от исходной формы своей аэробностью. При продувании воздуха через жидкую среду раса $АН_2$ накапливает гораздо больше биомассы по сравнению с исходной культурой. Более интенсивное размножение этой расы наблюдается как на пивном сусле, так и на мелассе. Если принять вес клеток исходной расы, накапливающихся в среде после восьмичасовой аэрации, за 100%, то вес урожая расы $АН_2$ в среднем равен 177,2%.

В конце опытов производилась микроскопия культуры, которая подтверждала, что в среде действительно имеются только клетки, характерные для данной культуры. Возврат расы $АН_2$ к исходной не наблюдался ни разу. Менее устойчива исходная форма, которая нередко при культивировании в лабораторных условиях перерождается и в ней начинают появляться клетки, характерные для расы $АН_2$. В связи с этим необходимо производить высевы из аэрируемых культур с тем, чтобы убедиться в однородности их клеточного состава.

Обсуждение результатов

Приведенные выше экспериментальные данные убеждают в том, что складчатая раса Saccharomyces cerevisiae обладает способностью накапливать большую биомассу. Естественно, что в основе этого нового свойства лежит коренное изменение обмена веществ дрожжевой клетки. Теоретически вполне вероятно, что соотношение между бродильной и дыхательной способностью у данной расы сдвинуто в сторону последней. Клетки этой расы должны в условиях аэрации становиться менее активными в смысле брожения и энергично окисляющими различные органические соединения. Это изменение физиологии нашло отражение и в соответствующих изменениях морфологии клеток и структуры колонии. Было бы преждевременным утверждать, что такая корреляция закономерна для всех дрожжевых и дрожжеподобных микроорганизмов, но по отношению к данному случаю она несомненна. Таким образом, нет оснований говорить о физиологической и морфологической изменчивости — первая предполагает вторую и обратно. Ведущим, конечно, следует считать изменение обмена веществ, в данном случае усиление биосинтеза плазмы, а изменение формы клеток и структуры колонии как следствие этих изменений. Существование такой связи интересно не только в теоретическом отношении. Зная взаимную связь между морфологическими и функциональными особенностями, экспериментатор получает возможность осуществлять сознательный отбор новых форм, руководствуясь такой корреляцией. Вместо механической проверки физиологических особенностей у сотен и тысяч культур, проверки неизбежной, если не знать о существовании корреляции, становится реальным отбор определенных форм. Как мы имели возможность убедиться, такой отбор открывает широкие перспективы в селекционной работе. Вначале устанавливается сам факт наличия корреляции, в дальнейшем же сопоставляются различной степени морфологические изменения с различными физиологическими особенностями. Это легко достигается сравнительным изучением морфологии неактивных, малоактивных и наиболее активных рас микроорганизма. В результате становится реальным быстрый отбор наиболее ценных форм. В основе этого метода лежит представление об изменении всего типа развития микроба и отрицание возможности изолированного изменения только одного свойства. Последнее положение легло в основу современных формально генетических исследований в области микробиологии. Ошибочность их опровергается всем опытом экспериментальной работы в области изучения наследственности и изменчивости микроорганизмов. Изолированного изменения только одного свойства не бывает, так как оно сопровождается изменением структуры и функции одновременно соответственно условиям существования. В одних случаях такая связь устанавливается легко при помощи обычных методов исследований. В других сопоставление при помощи стандартных приемов не достигает цели. Так было в данных исследованиях, так как скорость размножения исходной и экспериментально полученной рас дрожжей была одинаковой при культивировании их в колбах с пивным суслом. Однако достаточно было изменить методику исследований и определить урожай клеток при интенсивной аэрации питательной среды, как различие, существующее между расами, стало особенно ярким. Несомненно, что в тех случаях, когда отсутствует видимая связь между функциональными и морфологическими изменениями, следует искать пути, которые позволили бы установить такую корреляцию. Изучение тонких особенностей структуры клетки, наряду с более тщательным физиологическим анализом различных ее функций, несомненно, даст многое в этом отношении.

В заключение следует остановиться еще на вопросе о причинах, вызывающих описанные изменения. Повседневный опыт все больше и больше убеждает микробиологов в том, что условия лабораторного содержания микробов резким образом изменяют их обмен веществ. В связи с этим нельзя не отметить постоянно наблюдаемых переходов гладких исходных форм дрожжей в складчатые расы. При ознакомлении с состоянием культур в некоторых музеях бываешь свидетелем массового превращения гладких культур в шероховатые. Повидимому, длительное культивирование в лабораторных условиях на сусло-агаре расшатывает наследственность дрожжей, а последующие пассажи в аэробных условиях способствуют образованию рас дрожжей дыхательного типа. Такое «перерождение» культур лишний раз говорит о единстве микроорганизма и его условий жизни. В связи с этим интересно, что для сохранения гладких исходных форм наиболее благоприятны пересевы культуры, находящейся в анаэробных условиях. В отличие от сусло-агара, пересевы в жидком сусле способствуют устойчивости исходной расы бродильного типа и предотвращают ее переход в складчатые формы. Повидимому, возникающие в условиях лаборатории складчатые расы мало приспособлены для обитания в природных условиях. Обычно при выделении дрожжевых организмов из природы такие расы не встречаются совершенно.

Выводы

1. Изменчивости подвергаются не отдельные свойства микроорганизма, а весь тип его развития, и поэтому между функциональными и морфологическими изменениями постоянно существует связь. Изучение этих связей, там где это возможно, имеет не только теоретическое значение, так как оно открывает широкие перспективы в области селекции микробов.

2. Складчатая раса Saccharomyces cerevisiae (раса $АН_2$), полученная экспериментально, отличалась от гладкой исходной формы по величине и форме клеток, а также по структуре колоний. При размножении клеток в относительно анаэробных условиях (колбы с пивным суслом) обе расы накапливали одинаковую биомассу. В аэробных условиях, на поверхности сусло-агара или в сильно аэрируемой жидкости, раса $АН_2$ оказалась значительно более урожайной, чем исходная культура. Следовательно, между морфологическими особенностями расы и ее способностью синтезировать живое вещество в аэробных условиях существует определенная корреляция.

3. Проведенные исследования подтверждают, что для более полной реализации новых свойств, имеющихся у экспериментально полученных рас, необходимо создавать новые условия жизни. При стандартных методах исследования различие между исходными культурами и новыми расами может остаться необнаруженным.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 11.VII. 1950 г.

РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННЫХ АТМОСФЕРНЫХ ДАВЛЕНИЙ

Я. И. Палий

Вопрос о росте и развитии микрофлоры в условиях разреженной атмосферы возник у нас в связи с проводимой нами работой по применению пониженных атмосферных давлений для сохранения пищевых продуктов.

Принцип сохранения пищевых продуктов в указанных выше условиях основан на следующем. Благодаря пониженному атмосферному давлению и связанному с этим пониженному парциальному давлению кислорода создаются неблагоприятные условия для жизни и развития тех аэробных микроорганизмов, которые в обычных условиях приводят пищевые продукты к порче.

Полученные нами результаты в опытах с пищевыми продуктами, хранившимися в разреженных атмосферах при +18, +25°, подтверждают эту точку зрения. Так, например, вареная колбаса — сардели,— относящаяся к скоропортящимся продуктам, при нахождении в вакууме с остаточным давлением 30—40 мм рт. ст. сохранялась без порчи в течение пяти суток. Такая же колбаса в термостате при обычном давлении воздуха при указанных температурах уже после первых суток хранения начинала портиться.

Творог, также скоропортящийся продукт, в указанной выше разреженной среде сохранялся без порчи до шести суток. Такой же творог при обычном атмосферном давлении испортился после двух суток хранения.

Аналогичные данные мы получали при испытании ряда пищевых продуктов различных по своему составу.

В результате проведенных опытов мы нашли, что сроки хранения испытанных продуктов в разреженной атмосфере с остаточным давлением воздуха 30—40 мм рт. ст. при +18, +25° по сравнению со сроком хранения таких же продуктов в обычных условиях давления воздуха удлиняются в 4—5 раз и более.

Для проведения опытов с чистыми культурами аэробных микроорганизмов, как и для хранения продуктов, мы применяли вакуумные шкафы емкостью в 10—15 л, снабженные электрическими нагревателями с автоматическими терморегуляторами. Воздух из шкафов выкачивался при помощи насоса. Разрежение доводили до различных остаточных давлений воздуха: 15—20 мм рт. ст., 30—40 мм рт. ст. и 90—100 мм рт. ст.

Во всех случаях эксперименты проводились при температуре в шкафах +28, +30°. Контрольные опыты ставились параллельно в термостате при обычном давлении воздуха и той же самой температуре.

Следовательно, при проведении опытов как с бактериальными, так и с плесневыми культурами мы использовали не оптимальные для этих микроорганизмов температуры, а придерживались для удобства в работе постоянно одной температуры, +28, +30°, близкой к оптимальной.

Из гнилостной группы бактерий мы испытывали: Bact. prodigiosum, Bac. mesentericus, Bac. mycoides, Bac. megatherium, Bact. proteus vulgaris, Bact. fluorescens liquefaciens, Bac. subtilis; из кишечной группы — Bact. coli commune (факультативный анаэроб); из плесневых

грибов — Aspergillus niger и Penicillium glaucum. Указанные культуры были получены из музея живых культур Одесского института эпидемиологии и микробиологии им. Мечникова.

При посевах микроорганизмов мы пользовались способом, сводящимся к следующему.

Посевы микроорганизмов производились в чашках Петри в расплавленные и охлажденные до 40° агаровые среды. Для каждой культуры ставилось не менее 8—9 серий.

Серия состояла из 12 чашек, из которых 9 мы устанавливали в вакуумные шкафы с температурой +28, +30° при разных степенях

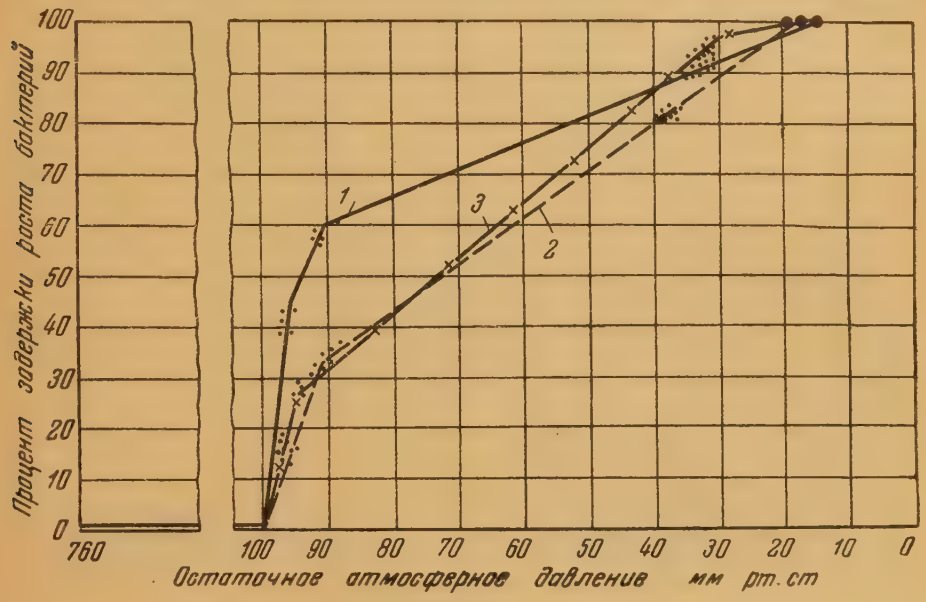


Рис. 1.

1 — Bact. prodigiosum; *2* — Bac. mycoides; *3* — Bac. mesentericus

остаточного давления: 3 — при 15—20 мм рт. ст., 3 — при 30—40 мм рт. ст. и 3 — при 90—100 мм рт. ст.; 3 чашки (контрольные) мы устанавливали в термостат при обыкновенном давлении воздуха и указанной температуре. Через сутки мы сопоставляли рост колоний, полученный на чашках, хранившихся в вакуумных шкафах, с ростом колоний на контрольных чашках. Эти наблюдения дали возможность судить о степени торможения роста аэробных микроорганизмов при разных степенях разреженной атмосферы.

Данные, характеризующие результаты опытов, приводим ниже на рис. 1, 2, 3, 4. Эти диаграммы составлены нами на основании подсчета микроорганизмов на тех чашках, где счет оказался возможным, т. е. где не было сплошного роста.

На рисунках большой кружок показывает, что при остаточном давлении 15—20 мм рт. ст. во всех опытах, проведенных с данной культурой, отмечалась полная задержка роста (колоний не было обнаружено). Сплошные черные линии в интервалах 760—100 мм рт. ст. означают, что при этих давлениях заметное торможение роста не наблюдалось. Кривые, приведенные на рисунках, иллюстрируют, что посевы аэробных микроорганизмов, хранившихся при +28, +30 мм рт. ст., в условиях пониженных атмосферных давлений при 30—40 мм рт. ст. (а тем более при 15—20 мм рт. ст.) давали по сравнению с такими же посевами, находившимися при той же температуре в обычных условиях

атмосферного давления, значительно ослабленный рост колоний, либо роста вовсе не обнаруживали.

Разреженый воздух с остаточным давлением в 90—100 мм рт. ст. оказывал незначительное влияние на задержку роста аэробных микроорганизмов.

Наши опыты проводились в разреженных атмосферах с наименьшим остаточным давлением в 15 мм рт. ст. и наибольшим остаточным давлением в 100 мм рт. ст. Эти параметры мы установили, исходя из следующих соображений. Bac. botulinus развивается в вакууме при давлении ниже 15 мм рт. ст. Постановку опытов с остаточным давлением

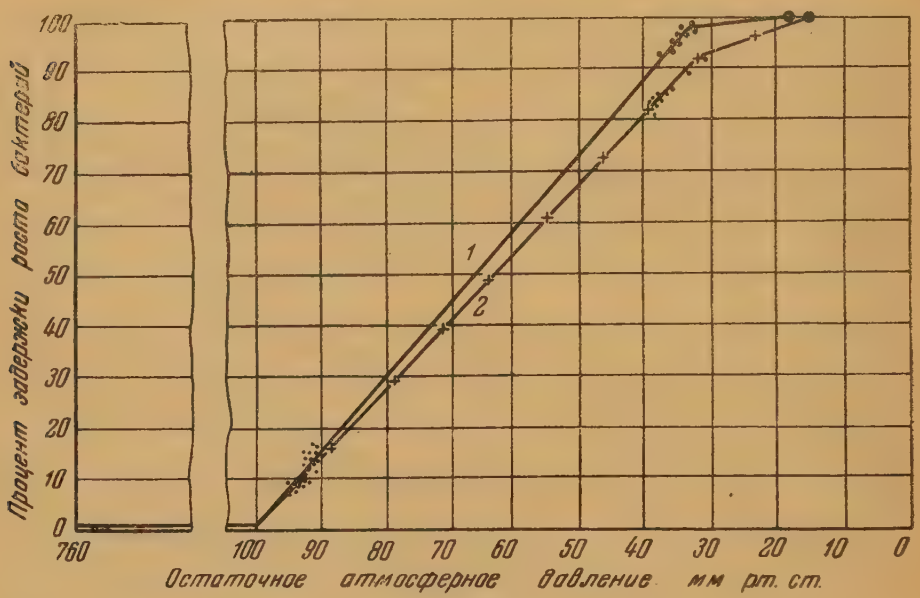


Рис. 2.
1 — Bac. megatherium; *2* — Proteus vulgaris

выше 100 мм рт. ст. мы считали излишней ввиду того, что при остаточном давлении в 100 мм рт. ст. мы уже отмечали низкий эффект в смысле торможения роста микроорганизмов.

Выросшие колонии аэробных микроорганизмов в разреженных условиях, независимо от их количества, имели размеры, во много раз (5—50) меньшие размеров колоний, выросших в обычных условиях атмосферного давления. Культивировавшаяся в тех же условиях разреженных атмосфер культура Bact. coli commune, исследованная нами параллельно с другими культурами как показатель фекального загрязнения пищевых продуктов, также показала угнетенный рост. Однако это торможение выражалось не в уменьшении количества выросших колоний, а лишь в уменьшении их размеров (10—50 раз).

Следует отметить, что материал для посевов исследованных плесневых грибов готовился более концентрированный, чем бактериальные взвеси, и все же для получения явно видимого эффекта при сопоставлении результатов роста в разных условиях приходилось чашки с посевами плесневых грибов оставлять для хранения на более продолжительный срок.

Опыты с плесневыми грибами, как и с бактериями, показали, что пониженное атмосферное давление вызывает значительное торможение их роста. Критическое давление в 15—20 мм рт. ст., при котором бактерии не обнаруживают вовсе роста, оказалось также критическим

для Asp. niger, что касается P. glaucum, то при 15—20 мм рт. ст. он давал весьма незначительный рост.

Наблюденное нами торможение роста и развития бактерий и плесневых грибов при культивировании в разреженной атмосфере могло быть

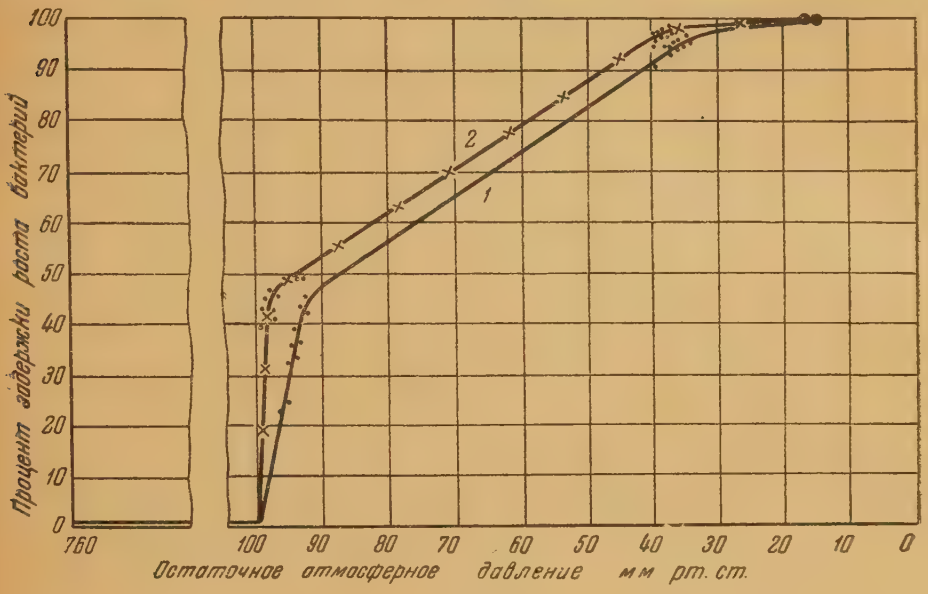


Рис. 3.

1 — Bact. fluorescens liquefaciens; *2* — Bac. subtilis

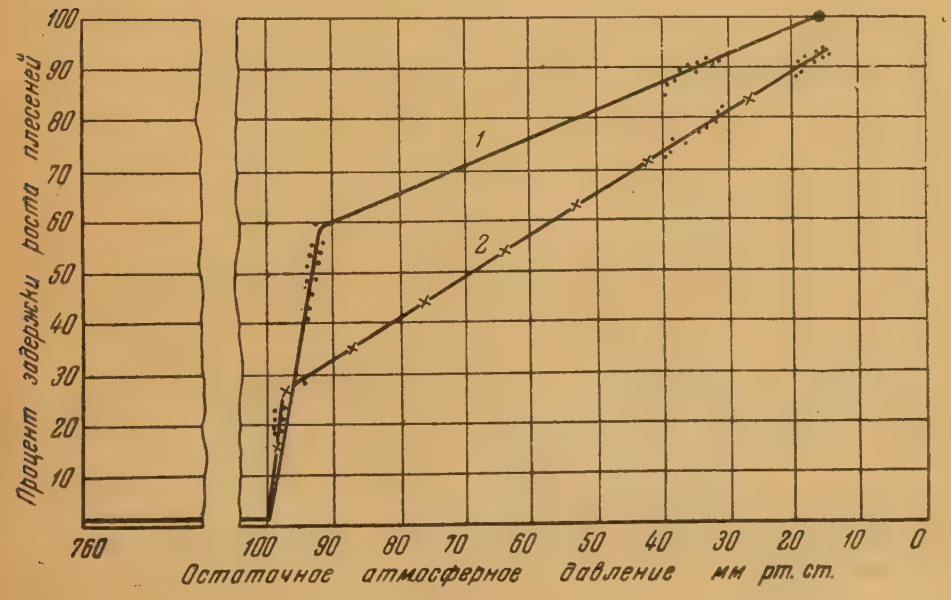


Рис. 4.

1 — Aspergillus niger; *2* — Penicillium glaucum

либо результатом бактерицидного, либо бактериостатического влияния пониженных давлений воздуха.

С целью выяснения этого вопроса нами были предприняты специальные опыты, заключающиеся в следующем.

Из хранившихся в каждом вакуумном шкафу трех чашек мы одну оставляли там же, а две переносили в термостат с обычным давлением воздуха и температурой +28, +30°. Через сутки все чашки вновь подвергались обследованию. Оказалось, что продление срока хранения посевов в разреженных атмосферах до двух суток не давало значительного увеличения числа выросших колоний и сами колонии также незначительно увеличили свои размеры.

Иные результаты оказались на чашках, которые были перенесены из вакуумных шкафов в термостат с обычным атмосферным давлением. На этих чашках было заметно резкое увеличение числа и размеров колоний. Однако число колоний на этих чашках оказывалось меньшим, чем на контрольных чашках, хранившихся все время при обычных атмосферных давлениях. Размеры колоний на чашках, перенесенных из вакуумных в обычные условия, также оказывались меньшими, нежели на контрольных чашках. Эти факты трактуются нами в том смысле, что в разреженной атмосфере менее стойкие индивиды, повидимому, погибают, развитие же более стойких заметно задерживается.

Исходя из изложенного, мы считаем, что способ хранения продуктов в разреженных атмосферах, при которых продукты сохраняют свою стойкость, надо отнести частично за счет бактерицидного, а в основном бактериостатического действия пониженных давлений на микрофлору, вызывающую в обычных условиях давления воздуха порчу продуктов.

Нашей конкретной ближайшей задачей и является установление таких параметров разрежения воздуха, при которых рост аэробов был бы заметно заторможен и в то же время исключалась бы возможность роста анаэробов.

Выводы

1. Проведенные опыты с чистыми культурами аэробных микроорганизмов (гнилостные бактерии и плесневые грибы), вызывающих в обычных условиях давления воздуха порчу пищевых продуктов, показали, что: а) разреженная атмосфера с остаточным давлением 15—20 мм рт. ст. вызывает задержку роста исследованных аэробных микроорганизмов на 100%, за исключением P. glaucum, который проявляет незначительный рост; б) остаточное давление 30—40 мм рт. ст. вызывает задержку роста на 70—98%; в) остаточное давление 90—100 мм рт. ст. оказывает незначительное влияние на задержку роста.

2. Колонии аэробных микроорганизмов, выросшие в разреженных условиях, независимо от их количества, имеют размеры, во много раз (5—50 раз) меньшие размеров таких же колоний, выросших при обычных атмосферных давлениях.

3. Культивировавшийся в разреженных условиях факультативный анаэроб — Bact. coli commune также давал угнетенный рост. Однако это торможение выражается не в уменьшении числа выросших колоний, а лишь в уменьшении размеров колоний (10—50 раз).

4. Торможение роста изученных микроорганизмов при пониженных атмосферных давлениях должно быть отнесено частично за счет бактерицидного, а в основном за счет бактериостатического эффекта разреженных атмосфер.

5. Преимущества предлагаемого способа повышения стойкости пищевых продуктов перед другими физическими способами, предусматривающими ту же цель, сводятся к тому, что: а) продукт не денатурируется, сохраняя свой нормальный состав и органолептические свойства; б) технологическая сторона способа несложная и не требует дорогой аппаратуры; в) способ легко осуществим как в стационарной обстановке, так и в условиях транспорта; г) экономически способ также рационален.

Одесский медицинский институт

Получено 3.VI. 1950 г.

АНТИБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПАДИ

Н. А. Красильников

В летние солнечные дни на листьях многих деревьев средней полосы нередко наблюдается появление блестящего налета, состоящего из липкой полужидкой сахаристой массы, сладковатой на вкус. Эта масса называется падью.

Полагают, что падь представляет собой экскременты тлей (Глухов [1]; Темнов [2]). Последние, обильно размножаясь, покрывают часто большие участки (отдельные ветки и целые деревья) сплошным налетом. Выделяемая ими падь бывает настолько обильна, что падает на землю в виде мелких капелек.

Появление пади часто обнаруживается на листьях липы, березы, дуба, нередко на листьях осины, бузины и некоторых других растений.

Падь нередко собирается пчелами и откладывается в соты. Получается падевый мед. Особенно часто падь собирается пчелами в засушливые периоды или годы, когда ощущается недостаток в цветочном нектаре.

Пчеловодам известно, что падевый мед нередко обладает токсическими свойствами, он вызывает явления отравления у пчел и может быть также источником отравления человека при применении его в пищу.

Причины токсичности падевого меда не выяснены.

В настоящем сообщении приводятся некоторые данные относительно антибактериальных и токсических свойств пади.

Нами были проведены исследования различных образцов пади, собранных с поверхности листьев березы, дуба, бузины, липы и осины. Образцы собирались в окрестностях Москвы в 1950 г. (Бутово, Зеленоградская, Яуза, Останкино и Малаховка). Сбор производился автором и сотрудником Института пчеловодства т. Темновым.

Падь собиралась вместе с листьями, а там, где она была в большом количестве, набиралась отдельно при помощи стеклянного капилляра. В том и другом случае доставленная в лабораторию падь тут же анализировалась микробиологически.

Падь смывалась каплей воды с поверхности листа, а в тех случаях, когда она набиралась в капилляры, вносилась непосредственно в каплю воды и микроскопировалась. Одновременно с этим производился высев пади на агаризованные среды (мясо-пептонный агар и сусло-агар) в чашки Петри.

Исследования показали, что все образцы пади содержали клетки гриба Botrytis, причем количество этого гриба различное в разных образцах пади. Падь, только что появившаяся на листьях, содержит очень мало клеток гриба или совсем его не содержит. Затем данный гриб быстро развивается и размножается в пади; спустя 1—3 суток вся падь заполнена чистой или почти чистой культурой данного гриба. В 20 образцах пади мы, кроме клеток Botrytis, ничего не обнаружили. В 3 образцах были обнаружены, кроме Botrytis, единичные клетки бактерий.

Высевы пади на агаризованные среды в чашки Петри дают те же результаты: во всех случаях вырастают чистая или почти чистая культура упомянутого гриба. Лишь в отдельных образцах при высеве в

чашки Петри обнаруживаются единичные колонии других грибов, а иногда и колонии неспороносных бактерий.

Исследования показали, что степень зарастания пади грибом Botrytis на разных растениях неодинакова. Наиболее обильное развитие гриба отмечается на листьях березы, затем липы; значительно слабее развивается гриб на листьях дуба, осины и бузины. Мы касаемся здесь только тех растений, которые были нами обследованы. Не исключается возможность, что на других растениях падь более обильно зарастает указанным грибом, чем падь на листьях березы. Возможно также, что в других географических зонах падь зарастает каким-либо другим грибом или вообще другими представителями микроорганизмов.

В 1929—1930 гг. нами исследовалась падь липы в Ленинграде и его окрестностях.

Было обследовано свыше 20 образцов пади. Тогда мы не находили в таком изобилии гриба Botrytis. В пади преобладали дрожжевидные грибы из группы Torula. Иногда встречались дрожжи Saccharomyces apiculatus и бактерии — спороносные и неспороносные.

После того как было установлено, что постоянным и преобладающим обитателем пади является гриб Botrytis, последний был изолирован в виде чистых культур из разных образцов пади, собранных с разных растений и из разных мест. Выделено было 12 культур.

Как показали исследования, все эти культуры совершенно однородны по своим культуральным, морфологическим и физиологическим свойствам и полностью совпадают с описанными культурами Botrytis cinerea, поэтому мы не приводим здесь характеристики наших культур.

Другие представители микроорганизмов, обнаруживаемые в отдельных образцах пади и в виде единичных клеток, были различны по систематическому положению и, повидимому, являются случайными формами, попавшими из воздуха.

Мы обнаруживали в пади грибы из родов Penicillium, Aspergillus и других; из бактерий были найдены Bacterium и Micrococcus.

Одновременно с изучением микрофлоры велись исследования антибактериальных свойств пади. Каждый образец пади вместе с небольшим кусочком листа накладывался на поверхность агаризованной среды (МПА) в чашки Петри, засеянной предварительно культурой тест-организма (Bact. coli, Staphylococcus aureus 209).

Падь, собранная в капилляры, наносилась в виде мелкой капельки на поверхность МПА, засеянной теми же тест-организмами.

По зоне отсутствия роста тест-организмов определялось наличие антибактериальных свойств.

Таблица 1

Антибактериальное действие пади (величина зоны подавления роста St. aureus выражена в миллиметрах по радиусу)

Образцы пади	Зона подавления стафилококка
Береза	13
Липа	7
Бузина	4
Дуб	2

Эти исследования показали, что все образцы пади, в которых было обильное развитие гриба Botrytis, обладали резко выраженными антибактериальными свойствами, причем антибактериальное действие проявлялось только против грамположительных бактерий. На грамотрицательных бактерий ни один образец пади не оказывал никакого действия.

Образцы пади, собранные с листьев березы, наиболее сильно подавляли рост бактерий.

На приведенной таблице показана степень подавления стафилококка

образцами пади, собранными с разных растений. В данном опыте на МПА в чашки Петри накладывались равной величины пластинки листа с падью (1 см²). На одном и том же растении сила действия пади может быть неодинакова. Падь, только что образовавшаяся, где еще не успели развиться клетки гриба, не обладает антибактериальными свойствами. Нами была просмотрена одна ветка березы от начала появления на ее листьях пади и до полного усыхания ее. Несколько листочков было сорвано и обследовано в день отложения на них пади. Падь была почти стерильная и не подавляла роста бактерий.

Через 18 часов падь на листьях содержала большое количество гриба и была токсична для стафилококка; зона подавления роста — 5 мм. Через двое суток падь была заполнена клетками гриба и резко подавляла бактерии. Зона подавления роста — 15 мм по радиусу.

Антибактериальное вещество пади может проникать в ткани листа и вызывает некроз ее. При обильном развитии гриба листья в таких случаях нацело желтеют, увядают и погибают. Например, у наблюдаемых нами экземпляров березы происходила массовая гибель листьев на больших кустах и даже на всем дереве.

Чтобы удостовериться в том, что антибактериальное действие обусловлено падью, всосавшейся тканью листа, мы проделали следующие опыты. Листья тщательно промывались теплой водой до полного удаления налета пади, затем вырезались пластинки и накладывались на мясо-пептонный агар, засеянный тест-организмом.

Антибактериальные свойства пластинок листа в этих опытах полностью сохранялись.

У дуба антибактериальное вещество пади не проникает в ткани листа и не отравляет их. Мы ни разу не наблюдали некротических очагов на листьях дуба и бузины, а отмытые от пади листья не подавляют роста стафилококка. Редко встречаются повреждения ткани листа у липы.

Антибактериальное вещество проникает из паренхимы листа в черенки и дальше в стебли веток, причем вещество поступает, повидимому, только по сосудам камбия. Описанным методом наложения кусочков изолированной ткани установлено, что в древесине стеблей и веток антибактериальное вещество не обнаруживается.

Проведенные наблюдения и исследования показывают на тесную связь развития гриба с антибактериальными свойствами пади. Исследованиями установлено, что развивающийся в пади гриб является продуцентом антибактериальных веществ.

Чистые культуры выделенного нами гриба выращивались на разных средах — белковых и небелковых, на простых синтетических и на сложных органических. Было выявлено, что на пивном сусле (7° по Балг.), а также на среде, приготовленной из цветочного меда (жидкой и агаризованной), гриб образует антибактериальное вещество. Это вещество по своему антибактериальному спектру похоже на антибактериальное вещество пади.

На белковых средах (МПБ, МПА, среда на мясном порошке) это вещество не образуется. На агаризованных средах (сусло-агар, медовый агар) антибактериальное вещество образуется в большем количестве, чем в жидких средах (табл. 2).

Медовая среда приготовлялась разведением в воде цветочного меда (доставленного из Института пчеловодства) в разных концентрациях: 10, 20 и 40%. Наиболее благоприятным раствором для роста гриба и образования антибактериального вещества является 10%-ный. В 20%-ном растворе развитие гриба замедленное, а в 40%-ном гриб почти совсем не развивается.

Антибактериальное вещество извлекается из агара водой, спиртом. Оно слабо устойчиво к повышенной температуре: инактивируется пол-

ностью в кипящей воде, раствор слабеет при нагревании при 80° в течение 10—15 минут.

Антибактериальное вещество, образуемое грибом в культуральной жидкости, токсично для березы. Листья березы, смоченные нативным веществом, увядают с теми же признаками, которые отмечались при отравлении падью.

Таблица 2

Титр антибактериального вещества в культуре Botrytis cenereae. Подавление St. aureus 209

Источник культуры	Титр в разведении
Сусло жидкое	81
Сусло-агар	243
Жидкая медовая среда	27
Медовый агар	81

Это вещество для березы настолько токсично, что достаточно смочить им один раз листочки, чтобы вызвать их некроз и гибель.

На основании изложенного материала можно полагать, что причиной токсичности падевого меда является наличие в нем антибиотических веществ, образуемых микроорганизмами в процессе развития в пади. В 1950 г. в окрестностях Москвы таким организмом был Botrytis cinerea. Не исключается возможность, что в других климатических и географических условиях и в другие годы виновниками отравления пади, а следовательно, и падевого меда могут быть другие микроорганизмы — грибы и бактерии, продуценты антибиотических веществ.

Выводы

1. Было исследовано более 20 образцов пади, собранных с листьев разных растений в окрестностях Москвы.
2. Установлено, что в пади развивается гриб Botrytis cinerea.
3. Степень развития гриба на разных растениях различная. Наиболее обильное развитие его отмечается на листьях березы.
4. Гриб Botrytis cinerea при развитии в пади и в искусственных питательных средах образует антибактериальное вещество.
5. Антибактериальное вещество гриба подавляет только грамположительных бактерий. Оно резко токсично для березы, всасывается поверхностью листа, проникает в ткань его, поступает в ветки и разносится по всему дереву. При большой концентрации вещества листья березы желтеют и погибают.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 9.IX.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1 Глухов М. Важнейшие медоносные растения и способы их разведения, М., 1950.
2 Темнов В. Новые данные о падевом меде. Пчеловодство, № 8, 1949.

О ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ МЕЖДУ ХИЩНЫМИ ПОЧВЕННЫМИ ГРИБАМИ И НЕМАТОДАМИ

Ф. Ф. Сопрунов и Н. Я. Сопрунова

Еще Воронин [1] в 1869 г. отмечал, что изучавшийся им Arthrobotrys oligospora Fres. может вести себя двояко: в зависимости от культуральных условий развивающаяся из спор грибница или растет, как обычно, ветвящимися нитями или иногда загибается кольцами, которые, соединяясь между собой, образуют сложные сплетения.

Описанная Ворониным у Arthrobotrys oligospora Fres. морфологическая двойственность в строении грибницы наблюдается и у других представителей хищных гифомицетов, она выражает способность данных грибов вести двоякий образ жизни: сапрофитный и хищный [8].

В 1888 г. были опубликованы наблюдения Цопфа (Zopf [14]), показавшего, что способность к ведению хищного образа жизни проявляется у хищных грибов в присутствии нематод или их личинок. Предположение Воронина о том, что образование улавливающих сплетений зависит от изменений культуральной среды, осталось вне сферы интереса заграничных авторов, изучавших проявление хищности у низших растений, хотя остается несомненно бесспорным, что если присутствие нематод и их личинок способно воздействовать на гриб без непосредственного контакта, то прямым активатором хищности гриба следует считать некоторое изменение состава внешней среды, вызванное присутствием в ней нематод.

Предположение Рубо и Деказо (Roubaud et Descazeaux [12]) о чисто механическом раздражении нитей гриба нематодами было опровергнуто в том же году Командон и Фонбрюн (Commandon et de Fonbrun [11]), которые показали, что вода, в которой находились нематоды, обладает способностью вызывать проявление хищности у гриба и теряет эту способность при кипячении. Со своей стороны Рубо и Дешьен (Roubaud et Deschiens [13]) заметили, что сыворотка крови человека и животных, водные вытяжки трематод, цестод и нематод и экстракты фекалий человека и животных вызывают умеренное проявление хищности у хищных грибов. На основании этих отрывочных, крайне скудных данных заграничные авторы пишут об «общей реакции гифомицетов на присутствие биологических веществ или медиаторов, широко распространенных в природе» (Рубо, Дешьен) или о «специфическом белке» (Командон и Фонбрюн). Такие туманные объяснения крайне недостаточны, тем более, что хищные почвенные грибы представляют большой практический интерес для борьбы с возбудителями нематодозов человека, сельскохозяйственных животных и культурных растений и не меньший теоретический интерес, поскольку мы имеем пример глубочайшей, не только морфологической, но и физиологической перестройки низшего организма под влиянием незначительных воздействий извне. Вряд ли можно найти другой пример такого быстрого и полного перехода от сапрофитного к хищному образу жизни под воздействием ничтожных, еле уловимых, изменений среды.

Приступая в 1947 г. к изучению взаимоотношений нематод с хищными грибами, выделенными нами из почвы Туркмении и отнесенными к новому роду Didymozoophaga, мы исходили из предположения, что проявление хищности у почвенных грибов является филогенетически укрепившимся рефлексом на накопление во внешней среде продуктов жизнедеятельности нематод. Мы задались целью выяснить те изменения среды, которые оказывают возбуждающее действие на грибы, воспроизвести лабораторно перевод изучаемых грибов из сапрофитов в хищники, и наоборот, и, наконец, попытаться искусственно усилить проявление хищности для более успешного применения хищных грибов при «биосанации» пораженных участков.

Изучение факторов, вызывающих появление улавливающих колец у хищных грибов, значительно облегчается тем, что представители рода Didymozoophaga имеют относительно крупные споры, из которых может

вырасти даже в простой дестиллированной воде широко разветвленная грибница с многочисленными улавливающими кольцами. Описание последних, а также описание процесса захвата и умерщвления нематод и их личинок грибом приводилось нами [2, 3, 4, 5, 6, 9].

Проведенные опыты и полученные результаты

В общей сложности за три года было проведено более тысячи четырехсот наблюдений для выявления влияния изменений внешней среды на образование колец-ловушек хищными грибами. Ниже приводятся лишь опыты, давшие наиболее характерные, многократно проверенные результаты.

Чтобы удебиться, что проявление хищности у грибов из рода Didymozoophaga не вызвано недостатком питательных веществ в культуральной среде, мы поставили опыты по выращиванию грибов в отсутствие нематод на средах почти полностью лишенных питательных веществ.

Таблица 1

Хищный почвенный гриб D. dolioformis. Влияние среды на образование колец-ловушек

Среда культуры	Образование улавливающих колец			
	через 24 часа	через 48 час.	на 3-и сутки	на 4-е сутки
Мясной агар	+	+++	+++	+++
Фруктовый агар	+	++	++	++0
Кислый экстракт почвы	+	++	++	++
Щелочной экстракт почвы	+	++	++	++
Вода арычная	+	+ 0	++ 00	++ 00
Вода водопроводная (хлорирован.)	—	+	+	+
Вода из тающего снега	+	++ 00	++ 000	++ 000
Вода дождевая	+	+ 0	+ 000	++ 000
Вода свежедестиллированная	+	+	+	+
Дест. вода, в которой находилнсь нематоды в течение 3 дней	+ 0	+ 0	+ 000	+ 000

Примечание. В табл. 1, как и в последующих, приняты следующие условные обозначения: рост мицелия обозначен в зависимости от интенсивности +, ++, +++; образование улавливающих колец 0, 00, 000, 0000 (0 — обозначает наличие единичных колец во всей культуре, 0000 — наличие нескольких сот колец (более 200) в каждом поле зрения при просмотре культур под малым увеличением).

Из табл. 1 видно, что возбуждающее действие на гриб оказывают вода дождевая, вода из снега, тающего при комнатной температуре, дестиллированная вода, в которой предварительно находились нематоды, и в меньшей мере вода из арыка (канавы). Любопытно отметить, что достаточно прокипятить перечисленные жидкости, чтобы они потеряли свойство вызывать у гриба Didymozoophaga dolioformis образование улавливающих колец. Из приведенных опытов, повторенных много раз с тем же результатом, можно сделать вывод, что, во-первых, присутствие или отсутствие питательных веществ в среде не побуждает гриб D. dolioformis к переходу к хищному образу жизни, и, во-вторых, что пребывание нематод в дестиллированной воде обогащает ее каким-то актива-

тором хищности гриба, который имеется также в воде снежной, и в воде дождевой и который исчезает при кипячении. Следует заметить, что предположение Командон и Фонбрюн о выделении нематодами «специфического белка», денатурирующегося при кипячении среды, представляется необоснованным, поскольку крайне невероятно наличие «специфического белка» в дождевой воде или снеге.

При испытании влияния света на образование колец-ловушек у хищных грибов выяснилось, что практически даже сильное освещение, дневное или искусственное, не оказывает влияния на уничтожение нематод и их личинок грибом. Последнее происходит так же успешно как в полной темноте, так и на свету.

Таблица 2

Влияние света на образование колец-ловушек

Хищный гриб	Условия освещения	Среда культуры	Образование колец-ловушек через			
			24 часа	48 час.	2 дня	3 дня
D. dolioformis	На свету	в присутствии нематод	+	++	++	++
			0	00	00	00
	В темноте		+	++	+++	+++
				0	00	00
D. oligospora	На свету		+	++	++	++
				00	000	0000
	В темноте		+	++	++	+++
				0	00	000

Влияние внешней температуры также не имеет существенного значения, и в пределах между 10—15° и 35—40° хищные грибы реагируют на присутствие нематод или их метаболитов обильным образованием колец-ловушек. Наиболее активное уничтожение нематод грибом наблюдается при 20—30°. Следует заметить, что в этом отношении имеется значительное различие между отдельными представителями рода Didymozoophaga: некоторые штаммы, как D. arthrobotryoides и V. indolens, характеризуются явной термофильностью.

При посевах на различные среды выяснилось, что кислотность среды имеет определенное значение и что, в частности, в кислой среде хищные грибы образуют улавливающие кольца крайне медленно и в малом количестве даже в присутствии нематод. Наоборот, в слегка щелочной среде (pH 7,5—8,5) образование улавливающих аппаратов происходит быстро и в массовом количестве. В микологической практике принято пользоваться кислыми средами, элективно благоприятными для роста грибов, и мы считаем, что это и явилось основной причиной того, что проявление хищности у грибов до сих пор мало изучено, несмотря на относительную многочисленность хищных грибов в почве и широкий ареал их распространения.

Изменения pH среды, указанные в табл. 3, достигались добавлением химически чистого NaOH или KOH. Само по себе повышение pH среды влияния на хищные грибы не оказывало, оно лишь благоприятствовало проявлению хищности в присутствии нематод.

Неожиданным явилось ясно выраженное возбуждающее действие на хищные грибы едкого натра, простоявшего длительное время в открытом сосуде и, следовательно, содержавшего значительные количества

Таблица 3

Хищный гриб D. kirghizica. Влияние pH среды на образование колец-ловушек у хищных грибов в присутствии нематод и их личинок

pH среды	Образование колец-ловушек через			
	24 часа	48 час.	2 дня	3 дня
5	+	++	++	++ 0
7	+	++ 0	++ 00	+++ 000
7,5	+ 0	++ 00	+++ 000	+++ 000
8,4	+	+ 0	+++ 00	+++ 000

карбоната натрия. Подщелачивание дестиллированной воды до pH 7,5—8,5 едким натром, содержащим карбонат, сообщает ей свойство вызывать образование улавливающих колец на грибнице хищного гриба. Из табл. 4 видно влияние примеси карбонатов на образование улавливающих колец грибом в отсутствие нематод.

Таблица 4

Влияние карбоната на образование колец-ловушек

Хищный гриб	pH среды	Образование колец-ловущек через			
		24 часа	48 час.	2 дня	3 дня
D. arthrobotryoides	8,4 (NaOH)	+	++	++	+++
	8,4 (NaOH + Na_2CO_3) . . .	+	++	+++ 0	+++ 00
D. dolioformis	8,4 (NaOH)	+—	+	++	++
„ „	8,4 (NaOH + Na_2CO_3) . . .	+	+ 00	+++ 000	+++ 000
D. globospora	8,4 (NaOH)	+	++	++	++ 0
„ „	8,4 (NaOH + Na_2CO_3) . . .	+ 0	++ 0	++ 000	++ 000
D. oligospora	8,4 (NaOH)	++	++	++	++
„ „	8,4 (NaOH + Na_2CO_3) . . .	+	++	++ 0	++ 000

Когда выяснилось, что растворы едкого натра приобретают способность возбуждающе действовать на грибы при поглощении углекислоты воздуха, стала понятной казавшаяся несколько необычной активность дождевой воды и воды из снега; последние содержат, как известно, большее количество растворенной углекислоты, чем водопроводная или дестиллированная вода. Стало также понятным, что при кипячении, удаляющем углекислоту, вода теряет способность возбуждать хищные грибы.

При дальнейшем изучении взаимоотношений хищных грибов с нематодами мы исходили из предположения, что скопление нематод или их

личинок приводит к насыщению среды выделяемой ими углекислотой и что повышение содержания последней оказывает возбуждающее действие на хищные грибы.

Чтобы проверить это предположение, мы частично насыщали углекислым газом 0,1 *N* раствора NH_4OH, KOH, NaOH. Подщелачивали этими растворами дестиллированную воду до pH 8,2 и проверяли их действие на хищные грибы (табл. 5).

Таблица 5

Хищный гриб D. dolioformis. Влияние CO_2 на образование колец-ловушек

Среда	Образование колец-ловушек через			
	24 часа	48 час.	2 дня	3 дня
Раствор KOH pH=8,2, частично насыщен CO_2	+ 0	++ 000	++ 000	Опыт прекращен
Раствор NaOH pH=8,2, частично насыщен CO_2	+ 00	++ 000	++ 000	
Раствор NH_4OH pH=8,2, частично насыщен CO_2	+ 0	++ 000	++ 000	

Роль щелочи сводится, вероятно, к связыванию углекислоты в виде сравнительно сильно диссоциированных углекислых солей. В нейтральной или кислой среде происходит быстрая диффузия углекислого газа из жидкой среды в воздух, чем, видимо, и объясняется, что в кислой среде хищные грибы значительно менее реагируют на присутствие нематод. Занося хищные грибы в дестиллированную воду, насыщенную углекислым газом и помещенную в атмосферу двуокиси углерода, мы получили значительно менее выраженное возбуждение гриба, чем при насыщении угольным ангидридом щелочного раствора. Это объясняется, видимо, тем, что активатором хищности грибов следует признать ион CO''_3, который появляется при электролитической диссоциации сильно разведенных растворов углекислоты и ее солей. Как известно, в щелочной среде диссоциация углекислых солей приводит к появлению иона CO''_3 в растворе.

После выявления возбуждающего действия аниона CO''_3 на хищные грибы из рода Didymozoophaga необходимо было показать для выяснения всех звеньев цепи нематода — хищный гриб, что скопление нематод и их личинок сопровождается накапливанием углекислоты во внешней среде.

Метаболиты, выделяемые нематодами, и тем более газовый обмен нематод крайне мало изучены. Известно, что у водных беспозвоночных, у червей и у большинства других низших животных метаболизм белков ведет к образованию аммиака. Аминокислоты, освобождающиеся при эндогенном распаде белков, подвергаются последовательным дегидрированию и гидратации, которые ведут в конечном счете к образованию кетокислот и аммиака. Последний выделяется низшими животными во внешнюю среду. С другой стороны, дополнительное количество аммиака образуется в процессе распада пуринов, который у низших животных, как сипункулиды и др., идет вплоть до образования аммиака. Все это делает весьма вероятным предположение о выделении аммиака и нематодами.

Выделение аммиака нематодами может объяснить, почему двуокись накапливается в жидкой среде в виде относительно сильно диссоциированной углекислой соли аммония.

Чтобы проверить накопление углекислоты, мы помещали на сутки большое число нематод (до тысячи и более) в несколько миллилитров дестиллированной воды. Ориентировочное определение содержания CO_2 проводилось нефелометрически по интенсивности помутнения после добавления гидрата бария и глицерина (для избежания быстрой флокуляции и выпадения осадка) [7]. Таким путем удалось установить, что нематоды выделяют углекислоту, которая накапливается в жидкой среде, вероятно, в виде карбоната аммония. Из повторных определений выяснилось, что в среднем одна свободноживущая почвенная нематода выделяет в сутки 1—2 десятитысячных миллиграмма CO_2 [10].

Нагревая дестиллированную воду, в которой находились нематоды, мы убедились, что при кипячении вода теряет свойство возбуждать хищность гриба. Это легко объясняется нестойкостью карбоната аммония, который распадается и выделяется в виде CO_2 и NH_3.

Чтобы проверить, является ли углекислый аммоний специфическим возбудителем проявления хищности у хищных гифомицетов, мы попытались определить порог чувствительности грибов к присутствию карбоната аммония в среде. Опыты проводились с грибами D. dolioformis и D. oligospora при 30—35°.

Таблица 6

Влияние углекислого аммония на образование колец-ловушек
Гриб D. dolioformis

Нормальность раствора $(NH_4)_2CO_3$ в дест. воде	Образование колец-ловушек через		
	24 часа	48 час.	2 дня
N/50	+	+	+ 00
N/100	+	+ 0	+ 000
N/500	++	++ 000	++ 000
N/5 000	++	++ 000	++ 000
N/50 000	+ 0	+ 00	++ 000
N/500 000	+ 0	+ 000	++ 000
N/5 000 000	+	+ 0	+ 00
Контроль—дест. вода	+	+	+ 0
То же	+	+	+
»	+	+	+ 0

Из табл. 6 и 7 видно, что даже разведенный в миллион раз нормальный раствор карбоната аммония еще оказывает выраженное возбуждающее действие на хищные грибы D. dolioformis и D. oligospora. Такие концентрации должны иметь место и в естественных условиях в местах скопления нематод, и мы считаем поэтому, что и в природных

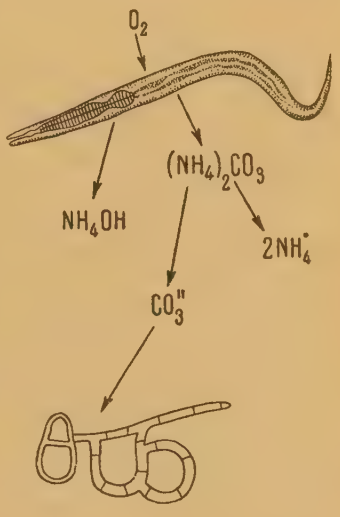
Таблица 7

Влияние углекислого аммония на образование колец-ловушек
Гриб D. oligospora

Нормальность раствора $(NH_4)_2CO_3$ в дест. воде	Образование колец-ловушек через		
	24 часа	48 час.	2 дня
N/5 000	+ 0	+ 0	++ 00
N/50 000	+ 0	+ 000	+ 000
N/500 000	+ 0	+ 000	+ 000
N/5 000 000	+	+ 00	+ 00
Контроль—дест. вода	+	+	+ 0
То же	+	+	+

условиях взаимоотношения хищных грибов с нематодами и их личинками могут быть представлены следующей упрощенной схемой (см. рисунок).

Приведенная схема не исчерпывает, вероятно, всей сложности установившихся взаимоотношений хищных грибов с нематодами и их личинками. Помимо углекислого газа и аммония, нематоды выделяют другие метаболиты, возможно, также способные возбуждать хищные грибы. Эти метаболиты термостабильны, они являются, вероятно, продуктами распада белка, но полученные до сих пор разрозненные данные не позволяют судить об их строении. Вещества, возбуждающие хищные грибы, можно выявить в плазме крови и в очищенном экстракте испражнений человека и животных.



Если и удастся выяснить в дальнейшем другие взаимосвязи хищных грибов с нематодами, нам все же представляется, что можно, несомненно, считать, что иону CO''_3 принадлежит как связывающему звену одна из главных ролей во взаимоотношениях хищных грибов со своими жертвами.

В заключение интересно отметить, что протоплазма хищного гриба, лишенного всяких морфологически дифференцированных органов чувств, проявляет высокую чувствительность к повышению содержания CO''_3 во внешней среде. Не менее интересна глубокая морфологическая и физиологическая перестройка гриба-хищника, образующего специальные аппараты-ловушки и приступающего к улавливанию, умерщвлению и перевариванию нематод и их личинок, как только повышение содержания иона CO''_3 во внешней среде сигнализирует о присутствии в непосредственной близости возможных жертв.

Мы считаем, что здесь наблюдается любопытный филогенетически укрепившийся рефлекс низших растений на изменение внешней среды.

Искусственно создавая эти изменения, можно по желанию заставить грибы из рода Didymozoophaga вести сапрофитный или хищный образ жизни.

Выводы

1. Хищные грибы, выделенные нами из почвы Туркменистана и отнесенные к новому роду Didymozoophaga, являются факультативными хищниками. Переход от сапрофитного к хищному образу жизни вызван изменением внешней среды при накоплении в ней продуктов жизнедеятельности нематод.

2. Одним из более эффективных «активаторов», вызывающих образование аппаратов-ловушек у хищных грибов, являются ионы CO''_3, которые образуются в жидкой среде из метаболитов, выделяемых нематодами.

3. Хищные грибы, лишенные морфологически обособленных органов чувств, проявляют высокую чувствительность к появлению во внешней среде иона CO''_3.

4. Изменяя внешнюю среду, можно по желанию заставлять хищные грибы вести сапрофитный или хищный образ жизни.

Нами разработано несколько методов химического воздействия на хищные грибы и их споры, позволяющие направлять грибы из рода Didymozoophaga к хищному образу жизни.

5. Проявление хищности у почвенных грибов мы рассматриваем как филогенетически укрепившийся у низших растений рефлекс на присутствие во внешней среде метаболитов нематод.

Институт малярии и медпаразитологии ТССР
Ашхабад

Получено 21.VI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронин М. С. Микологические исследования. СПБ., 1869.
2. Сопрунов Ф. Ф. Уничтожение инфекционных личинок нематод почвенными грибками. Медицинская паразитология и паразитарные болезни, **2**, 78, 1947.
3. Сопрунов Ф. Ф. Грибы-хищники, уничтожающие личинок нематод. Изв. ТФАН, **4**, 92, 1950.
4. Сопрунов Ф. Ф. К вопросу о родовой принадлежности хищных гифомицетов из почвы Туркменистана. Изв. ТФАН, **5**, 88, 1950.
5. Сопрунов Ф. Ф. О некоторых биологических особенностях хищных почвенных грибов Туркмении. Изв. ТФАН, **6**, 87, 1950.
6. Сопрунов Ф. Ф. Хищные низшие растения Туркменистана и их применение для борьбы с нематодозными заболеваниями человека, сельско-хоз. животных и культурных растений. Сборник тезисов докладов, посвященных открытию АН ТССР, изд. ТФАН, 1951.
7. Сопрунов Ф. Ф. Упрощенный метод определения углекислоты, выделяемой гидробионтами. Изв. ТФАН, **2**, 90, 1951.
8. Сопрунов Ф. Ф. О приоритете русских ученых в изучении хищных почвенных грибов. Медпаразитология и паразитарные болезни, **2**, 79, 1951.
9. Сопрунов Ф. Ф. и Галиулина. Хищные гифомицеты Туркменистана. Микробиология, XX, вып. 6, 1951.
10. Сопрунов Ф. Ф. и Киселева И. А. О газовом обмене у личинок нематод. Медпаразитология и паразитарные болезни, **3**, 256, 1951.
11. Commandon et de Fonbrune. Sur les dispositifs de capture des champignons prédateurs. Bull. Soc. Path. Exot. Paris, **32**, 439, 1939.
12. Roubaud et Descazeaux. Champignons prédateurs de nématodes. Bull. Soc. Path. Exot. Paris, **32**, 77, 209, 245. 1939.
13. Roubaud et Deschiens. Sur les agents de formation des dispositifs de capture chez les hyphomycètes prédateurs de nématodes. C. R. Ac. Sci., **208**, 245, 209, 77, 1939.
14. Zopf W. Zur Kenntniss der Infektionskrankheiten niederer Thiere und Pflanzen. Nova Acta Leop. Car. Acad. Nat., **52** (7), 42, 1888.

О СОЛЕЛЮБИВЫХ ТИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЯХ СОЛЯНЫХ ВОДОЕМОВ

А. С. Заславский

Исаченко и Салимовской [3], нами [1] и другими было установлено, что тионовокислые бактерии соляных водоемов с более или менее значительной концентрацией солей являются облигатно-солелюбивыми.

Учитывая, что «изменение наследственности каких-либо свойств адэкватно, соответственно влиянию условий внешней среды» (Лысенко [5]), естественно ожидать, что при изменении концентрации солей в том или ином водоеме соответственно изменяется и отношение микрофлоры к солям.

Куяльницкий лиман, начиная с 1931 г., благодаря наличию целого ряда гидрометеорологических факторов, начал опресняться (концентрация рапы по Боме в 1930 г. равнялась 12,5°, в 1947 г.— 2,9—2,1°).

Рубенчик и Гойхерман [6] отмечают, что тионовокислые бактерии Куяльницкого лимана в 1932—1934 гг. (концентрация рапы по Боме 5,6—5,1°) утратили свою потребность в NaCl. Так как опыты не ставились на чистых культурах, то оставалось неизвестным, какая развивается микрофлора. Кроме того, в примененных авторами средах могли развиваться и пресноводные тионовокислые бактерии, возможность попадания которых в лиман в период его опреснения весьма вероятна.

Когда нами было установлено, что тионовокислые бактерии Куяльницкого лимана облигатно-солелюбивые, мы пользовались средой, в состав которой входили хлориды в следующих количествах: NH_4Cl — 0,01 г; $MgCl_2$ — 0,01 г. Указанные же авторы применяли среду, содержащую $MgCl_2$ в количестве 0,25 г, т. е. более богатую ионами Cl'. Что касается ионов Na', то они находятся в значительных количествах в той и другой среде.

Поскольку нами было показано, что NaCl при культивировании тионовокислых бактерий может быть замещен двумя солями, из коих в одной находился ион Na', в другой ион Cl' [2], то утверждение указанных авторов о том, что тионовокислые бактерии утратили свою потребность в NaCl, нам казалось малоубедительным.

Занявшись исследованием тионовокислых бактерий в период опреснения Куяльницкого лимана, мы столкнулись с таким фактом, что тионовокислые бактерии хорошо развивались в первичных посевах грязи на жидкие среды разного состава, а также на агаризированных средах. Последующие же пересевы на жидкие среды не давали роста. В дальнейшем мы установили, что среды, приготовленные на дважды дестиллированной воде (вторая перегонка производилась нами в стеклянной посуде), оказались вполне пригодными для роста тионовокислых бактерий. Мы предполагаем, что, поскольку водопроводная вода, которой мы пользовались, была хлорированной, то при первой дестилляции хлор мог частично переходить в дестиллят. При второй же дестилляции мы освобождались от хлора.

В 1946 г. при посеве свежей грязи Куяльницкого лимана (концентрация рапы по Боме 3,1—3,3°) на среду (применяемую для Thiobacillus thioparus) без NaCl не наблюдалось развития тионовокислых бактерий. (Среда эта применялась нами и в дальнейшем, посевы ставились

в термостат при 30°.) О наличии или отсутствии роста мы судили по внешним признакам путем микроскопического исследования и определения количества гипосульфита в среде. Методика определения гипосульфита и продуктов его окисления приведена нами в одной из предыдущих работ [1]. Чистая культура, выделенная при посеве грязи на жидкую среду с 3% NaCl, многократно в течение двух месяцев пересевавшаяся на агаризированную среду с 3% NaCl, оставалась облигатно-солелюбивой. Минимальная концентрация NaCl, при которой наблюдался рост на жидкой питательной среде, равнялась 1,25%, на агаризированной среде — 0,25%. Максимальная концентрация оказалась равной соответственно 13 и 12%. Минимальную концентрацию удалось снизить до 0,25%, при прибавлении к жидкой питательной среде 0,1% агара или же 0,1% воздушно-сухой грязи. В 1946 г. мы работали со старой лабораторной культурой. В 1947 г. мы проводили исследования над свежевыделенными лабораторными культурами тионовокислых бактерий. Для исследования была взята грязь Куяльницкого лимана, когда концентрация рапы лимана равнялась 2,1° по Боме.

При посеве грязи (на 25 мл среды 0,1 г грязи) при отсутствии в среде хлористого натрия окисление гипосульфита не наблюдалось. Минимальная концентрация NaCl, при которой наблюдался рост тионовокислых бактерий, равнялась 0,7%, максимальная — 26%. Оптимум для развития тионовокислых бактерий находился в пределах концентрации NaCl от 5 до 8%. Тионовокислые бактерии могли развиваться при отсутствии NaCl при условии добавления к среде до стерилизации 0,5% воздушно-сухой грязи или 0,1% агара. Удавалось также получить рост тионовокислых бактерий в среде без NaCl при заражении значительным количеством грязи (около 3 г на 25 мл среды).

Таким образом, нами было установлено, что тионовокислые бактерии в резко опресненном Куяльницком лимане (2,1° по Боме) остались облигатно-солелюбивыми, однако недостаток NaCl мог быть компенсирован некоторым количеством грязи или агара. Указанные количества этих веществ содержат весьма незначительное количество солей, поэтому рост тионовокислых бактерий в данном случае нельзя объяснить тем, что, благодаря этим веществам, в среду вносится минимум солей, который необходим тионовокислым бактериям для роста. Можно предполагать, что эти вещества, изменяя обмен веществ в клетке, создают условия для ее развития при недостатке хлористого натрия.

В дальнейших исследованиях нам удалось солевой минимум повысить при следующих условиях.

1. Первичная накопительная культура в среде с 5% NaCl пересевалась на среду с 5% NaCl, после появления роста снова производился пересев на такую же среду с 5% NaCl, из этой последней культуры выделялась чистая культура тионовокислых бактерий на агаризированной среде с 5% NaCl.

Накопительная культура первого пересева развивалась при солевом минимуме 3% NaCl, второго пересева — 4% NaCl. Для чистой культуры солевой минимум равнялся 4% NaCl.

2. Первичная накопительная культура в среде с 16% NaCl пересевалась на среду с 16% NaCl, после появления роста производился пересев на такую же среду с 16% NaCl; из этой последней культуры выделялась чистая культура тионовокислых бактерий на агаризированной среде с 16% NaCl.

Накопительная культура первого пересева развивалась при солевом минимуме 4% NaCl, второго пересева — 5% NaCl. Для чистой культуры солевой минимум равнялся 6% NaCl.

Таким образом, нами было доказано, что солевой минимум для солелюбивых тионовокислых бактерий в условиях эксперимента весьма изменчив, что его удается повысить даже до 6% NaCl.

Пересевы чистых культур солелюбивых тионовокислых бактерий из жидких сред, содержащих 1% NaCl, на среды с меньшей концентрацией этой соли (0,75%) нам не удавались.

Для того чтобы выяснить, не являются ли солелюбивые тионовокислые бактерии соляных водоемов адаптированными к хлористому натрию формами пресноводных тионовокислых бактерий, мы предприняли сравнительное изучение обеих форм.

Пресноводные тионовокислые бактерии мы выделили из сточной жидкости путем посева на среду без NaCl. При пересеве на агаризированную среду нам сравнительно легко удалось выделить чистую культуру. При микроскопическом исследовании культуры можно было обнаружить маленькие палочки и капельки серы, расположенные вне бактериальных клеток.

По морфологическим и биохимическим свойствам бактерии были схожи с тионовокислыми бактериями, выделенными нами из черного ила Куяльницкого лимана. При первичном посеве сточной жидкости тионовокислые бактерии развивались в пределах концентрации NaCl от 0 до 1%. Чистая культура развивалась в тех же пределах концентрации NaCl. Мы попытались путем пересева пресноводной формы тионовокислых бактерий на питательные среды с постепенно повышающейся концентрацией NaCl повысить солевой максимум для этой формы, однако наши попытки оставались безуспешными.

Пересевы из жидкой среды, содержащей 1% NaCl, на среду с 1,25% NaCl не давали роста.

Таким образом, мы пришли к выводу, что отношения выделенных нами пресноводных тионовокислых бактерий и солелюбивых к хлористому натрию надо рассматривать как относительно устойчивые признаки этих бактерий.

Считаем нужным отметить, что пресноводные тионовокислые бактерии быстро, в течение нескольких дней, отмирают на плотной питательной среде, солелюбивая же форма длительное время сохраняется на этой же среде.

В литературе имеются указания, что пресноводная форма тионовокислых бактерий (Thiobacillus thioparus) ассимилирует азот только лишь из минеральных соединений, органические источники азота оказываются непригодными.

По данным Исаченко и Салимовской [3], исследованные ими тионовокислые бактерии соляных водоемов могут ассимилировать также и азот высокомолекулярных органических соединений.

Для сравнительного изучения выделенных нами пресноводной и солелюбивой форм с точки зрения ассимиляции азота нами были поставлены следующие опыты. Была приготовлена применявшаяся нами среда, в которую в качестве источника азота включался в одном случае пептон, в другом — аспарагин, в третьем — хлористый аммоний. Эти вещества прибавлялись к среде в количестве 5, 10, 20 или 40 мг на 50 мл среды. На этих средах выращивались пресноводные и солелюбивые тионовокислые бактерии. Для выращивания пресноводных бактерий применялась среда без прибавления NaCl, при выращивании солелюбов прибавлялось 5% NaCl. Заражение производилось в первом случае из агаровой культуры, не содержащей NaCl, во втором — из агаровой культуры с 5% NaCl.

В культурах определялось время появления пленки серы, а через 12 дней определялось количество оставшегося гипосульфита.

Полученные результаты представлены в таблице.

Из представленных в таблице данных следует, что как пресноводная, так и солелюбивая формы могут ассимилировать азот не только из минеральных, но и из органических соединений. Таким образом, в отношении ассимиляции азота солелюбивыми тионовокислыми бактерия-

Источник азота	Количество оставшегося гипосульфита в мл 0,01 N гипосульфита (среднее)	День появления пленки серы
Солелюбивая форма		
Пептон		
5 мг на 50 мл среды	7,2	3-й
10 „ „ 50 „	6,8	3-й
20 „ „ 50 „	6,7	3-й
40 „ „ 50 „	6,0	3-й
Контроль	19,8	—
Аспарагин		
5 мг на 50 мл среды	3,8	5-й
10 „ „ 50 „	1,5	3-й
20 „ „ 50 „	1,3	3-й
40 „ „ 50 „	5,0	3-й
Контроль	20,0	—
Хлористый аммоний		
5 мг на 50 мл среды	2,0	5-й
10 „ „ 50 „	3,3	5-й
20 „ „ 50 „	3,7	8-й
40 „ „ 50 „	5,2	5-й
Контроль	19,7	—
Пресноводная форма		
Пептон		
5 мг на 50 мл среды	3,0	4-й
10 „ „ 50 „	0,5	4-й
20 „ „ 50 „	7,8	4-й
40 „ „ 50 „	7,8	4-й
Контроль	19,9	—
Аспарагин		
5 мг на 50 мл среды	Полное окисление	3-й
10 „ „ 50 „	„ „	5-й
20 „ „ 50 „	„ „	3-й
40 „ „ 50 „	0,9	3-й
Контроль	19,8	—
Хлористый аммоний		
5 мг на 50 мл среды	7,3	8-й
10 „ „ 50 „	7,6	3-й
20 „ „ 50 „	9,2	5-й
40 „ „ 50 „	—	—
Контроль	19,2	—

ми наши даные совпадают с данными, полученными Исаченко и Салимовской.

Выделенная нами пресноводная форма отличается от Thiobacillus thioparus, который ассимилирует только лишь азот минеральных соединений. По этой же причине нужно считать, что изучавшиеся нами, а также Исаченко и Салимовской тионовокислые бактерии не являются солелюбивыми расами Thiobacillus thioparus.

Выделенная нами солелюбивая форма не образует политионатов в качестве промежуточных продуктов окисления, на что нами указывалось в одной из предыдущих работ [1]. Не образует политионатов и выделенная нами пресноводная форма тионовокислых бактерий. Ланге-

Поздеева [4], подробно изучавшая с биохимической точки зрения формы, выделенные Исаченко и Салимовской, также не обнаружила политионатов в качестве промежуточных продуктов окисления гипосульфита.

Подводя итоги проделанной работы и сопоставляя полученные результаты с данными других исследователей, мы приходим к выводу, что тионовокислые бактерии соляных водоемов СССР, изучавшиеся Исаченко и Салимовской, нами, Ланге-Поздеевой и другими, отличаются от видов, описанных другими исследователями: в одном случае тем, что повышают кислотность среды и в качестве промежуточных продуктов окисления не образуют политионатов; в другом случае (Thiobacillus thioparus) — тем, что являются солелюбивыми и, кроме азота минеральных соединений, ассимилируют азот высокомолекулярных органических соединений (пептон, аспарагин).

Отличие от выделенной нами пресноводной формы заключается в том, что последняя очень чувствительна к повышению концентрации хлористого натрия в среде.

От ряда других видов, окисляющих серные соединения, отличие весьма значительно.

Исаченко и Салимовская выделенным ими видам дали различные названия. Критерием для дифференциации в основном служило отношение этих бактерий к NaCl, а также величина бактериальной клетки. Мы привели данные, доказывающие, что отношение тионовокислых бактерий к хлористому натрию может изменяться даже в условиях эксперимента. Что касается величины бактериальной клетки, то различие весьма незначительно. Кроме того, известно, что в зависимости от концентрации NaCl в среде величина бактериальной клетки может изменяться. Это отмечалось рядом исследователей. Поэтому мы считаем, что все формы, описанные Исаченко и Салимовской и нами, являются разновидностями одного вида, который мы предлагаем назвать в честь выдающегося исследователя микрофлоры океанов, морей и соляных озер Б. Л. Исаченко — Thiobacterium Issatschenkoi.

Выводы

1. Тионовокислые бактерии, выделенные нами из черного ила Куяльницкого лимана в период резкого опреснения этого водоема, оказались облигатно-солелюбивыми. Минимальная концентрация хлористого натрия в жидкой среде, при которой становился возможным рост тионовокислых бактерий, оказалась значительно ниже по сравнению с солевым минимумом для тионовокислых бактерий, выделенных из того же лимана в период значительной концентрации солей в рапе.

2. При соответствующих пересевах удается солевой минимум довести до 6% NaCl.

3. Формы тионовокислых бактерий, описанные Исаченко и Салимовской и нами, целесообразно объединить в один вид, который мы предлагаем назвать Thiobacterium Issatschenkoi.

Одесский технологический институт
пищевой и холодильной промышленности

Получено 15.IX.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заславский А. С. Об облигатно-галофильной бактерии лиманной грязи. Укр. бальнеол. сборник, 1927.
2. Заславский А. С. О тионовокислых бактериях лиманов. Дневник Всес. съезда ботаников в Ленинграде в 1928 г. Л., 1928.
3. Исаченко Б. Л. и Салимовская А. И. К морфологии и физиологии тионовокислых бактерий. Изв. Всес. гидролог. ин-та, № 21, 1928.
4. Ланге-Поздеева И. П. К вопросу об окислении серы и гипосульфита тионовокислыми бактериями. Архив биол. наук, XXX, вып. II, 1930.
5. Лысенко Т. Д. Агробиология. 1949.
6. Рубенчик Л. И. и Гойхерман Д. Г. Влияние опреснения лиманов на микрофлору лечебной грязи. Архив биол. наук, 4, 1936.

РЕДУКЦИЯ СУЛЬФАТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ МОЧКИ ЛЬНА

В. А. Алексеев

До недавнего времени способность восстанавливать сульфаты бактериями считалась присущей только организмам из рода Sporovibrio. Рубенчик [4] перечисляет ряд бактерий, не относящихся к этому роду, но обладающих свойством в более слабой степени разлагать сернокислые соли с образованием сероводорода. Штурм [8] описала две факультативно-аэробные бактерии из рода Pseudomonas Migula, способные энергично восстанавливать сульфаты в анаэробных условиях и развиваться в аэробных.

Прево (Prévot [10]), исследуя отношение различных анаэробов к разложению сульфатов и сульфитов, показал, что 21 вид бактерий из рода Clostridium мог разлагать сульфиты, а из 102 испытанных анаэробных культур только 4 восстанавливали сульфаты.

О восстановлении сульфатов и сульфитов возбудителями мочки льна в литературе, насколько нам известно, данных не имеется. При анаэробной тепловой мочке льна в щелочных буферных растворах, в границах pH = 7,2—9,5, в покровных тканях и в мочильной жидкости нами была обнаружена плектридиальная палочка, оказавшаяся при более близком исследовании новым анаэробным возбудителем мочки льна, не описанным в литературе. Описание его будет дано в специальной статье. Способность нового возбудителя восстанавливать сульфаты была выявлена при его выращивании на синтетической, забуференной среде при pH = 8,5 следующего состава $(NH_4)_2SO_4$ — 0,2%, $MgCl_2$ — 0,01%, K_2HPO_4 — 0,1%, глюкозы — 1%, очищенного мела — 2% — в качестве твердой фазы, 10 мл свежеприготовленного 1%-ного раствора $FeCl_3$ на 1 л среды. К этой среде добавлялось до 2% от объема среды аммиачного буфера Михаэлиса (NH_3 / NH_4Cl) или аммиачно-карбонатного буферного раствора, приготовленного путем насыщения слабого аммиачного раствора углекислым газом из баллона. Питательная среда стерилизовалась обычным образом, азотистый же источник, как и буферный раствор, стерилизовались через свечи Шамберлена и стерильно вносились перед посевом. Для создания анаэробных условий развития питательная среда разливалась в высокие пробирки слоем 50—60 мл. Культура развивалась лучше, если для приготовления питательной среды применялась водопроводная вода. Посевы выдерживались в термостате при 35°. Первые признаки восстановления сульфатов отмечены на 5—6-й день. Факт восстановления сульфатов новым возбудителем дал нам повод испытать эту способность и у других возбудителей мочки льна Granulobacter pectinovorum и Bac. felsineus. Состав среды приведен выше, только исходный pH для Gr. pectinovorum устанавливался равным 8,2. Первые признаки восстановления сульфатов отмечены на 5—7-й день. Для Bac. felsineus исходный pH среды устанавливался около 7,6, так как при более щелочном pH наблюдается задержка развития. Восстановление сульфатов в культурах Bac. felsineus протекает медленнее и в нескольких случаях вообще не наблюдалось. Количество сероводорода, образовавшегося в среде, приведено в табл. 1. Сероводород во всех случаях определялся иодометрически на 20-й день развития.

Как видно из приведенной таблицы, способность восстанавливать сульфаты в большей степени выражена у выделенного нами возбуди-

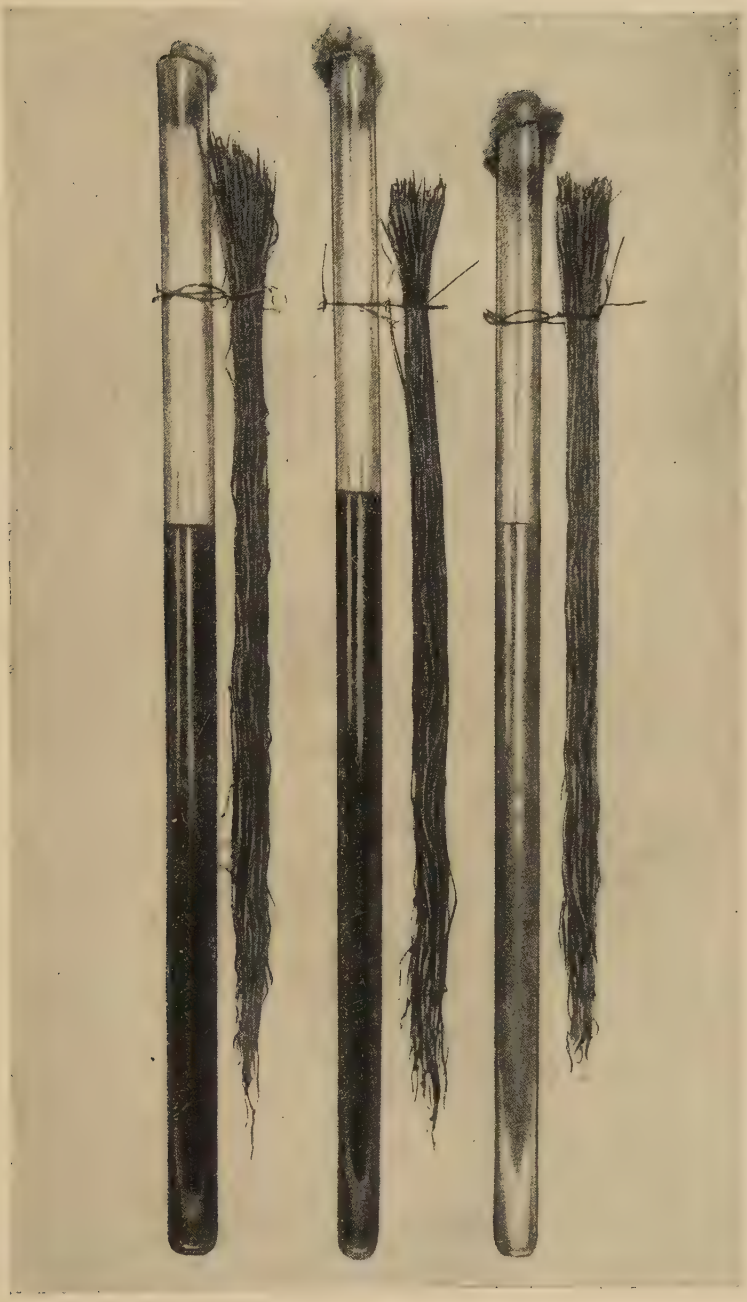


Рис. 1.

1 и *2* — сосуды Фрибеса с мочильной жидкостью и снопами льна, окрашенными в черный цвет вследствие редукции сульфатов. *3* — сосуд Фрибеса с мочильной жидкостью и снопом льна при обычной мочки льна

теля (максимальное количество H_2S 196 мг/л), в меньшей — у Gr. pectinovorum (максимальное количество H_2S — 87,3 мг/л) и в слабой степени у Bac. felsineus (максимальное количество H_2S 26 мг/л).

В качестве источника сульфатов нами была испытана закисная соль сернокислого железа $FeSO_4$ при следующем составе питательной среды: $(NH_4)_2CO_3$ — 0,2%, K_2HPO_4 — 0,1%, $MgCl_2$ — 0,01%, глюкозы — 1%, $FeSO_4$ — 0,05%, мела 2% в присутствии аммиачного буфера.

Количество образовавшегося H_2S приведено в табл. 2.

Таблица 1

Количество H_2S в культурах возбудителей мочки льна на синтетической забуференной среде на 20-е сутки развития

№ опыта	H_2S в мг/л		
	Культура		
	выделенный автором возбудитель	Granulobacter pectinovorum	Bac. felsineu s
1	166,0	37,1	16,0
2	136,0	49,6	11,0
3	187,0	87,3	8,0
4	127,0	68,9	24,1
5	196,0	58,6	12,3
6	98,0	67,8	20,1
7	116,0	45,5	19,9
8	175,0	72,4	14,0
9	140,0	76,5	10,0
10	148,0	82,4	26,0

Из табл. 2 видно, что выделенный нами возбудитель наиболее энергично восстанавливает сульфаты (максимальное количество H_2S — 200,6 мг/л). Gr. pectinovorum этой способностью обладает в меньшей степени (максимальное количество H_2S — 91,0 мг/л), и, наконец, у Bac. felsineus редукция выражена в слабой степени (максимальное количество H_2S — 19,4 мг/л).

Как известно, для восстановления сульфатов необходимо присутствие органических веществ в качестве донаторов водорода. Рубенчик показал, что Vibrio Rubentschikii может восстанавливать сульфаты в присутствии продуктов метанового брожения целлюлозы — уксусной и масляной кислот как источников углерода [5]. Работами Селибера с сотрудниками [6, 7] доказано, что восстановление сульфатов Sporovibrio desulfuricans возможно в среде, содержащей нейтральные жиры, в качестве единственного источника углерода. В этой связи интересно было проследить в процессе десульфатизации роль уксусной и масляной кислот, образующихся при мочке льна в значительных количествах. Однако опыты с применением смеси уксусной и масляной кислот как единственных источников углерода в среде не дали положительных результатов. Хотя эти результаты и не могут считаться окончательными, но они указывают на то, что, видимо, в процессе мочки льна донаторами водорода служат не образующиеся летучие кислоты, но другие углеродсодержащие соединения (вероятнее всего, промежуточные продукты распада пектина).

В забуференной щелочной среде с лимоннокислым железом (0,5%) в качестве источника углерода вместо глюкозы мы наблюдали восстановление сульфатов только в культуре выделенного нами возбудителя мочки льна.

При сопоставлении всех вышеприведенных таблиц видно, что наибольшая способность восстанавливать сульфаты на питательных средах различного состава отмечается у нового возбудителя анаэробной мочки льна, меньшая у Gr. pectinovorum и в слабой степени у Bac. felsineus. При замене в приведенных выше средах сульфатов сульфитами наблюдалось интенсивное восстановление последних, причем интенсивность этого процесса выражена в такой же убывающей последовательности: новая культура — Gr. pectinovorum — Bac. felsineus. Прево [10] отмечает в перечне штаммов Clostridium, способных восстанавливать суль-

фиты также и Cl. corallinum, весьма близкого по своим свойствам к Bac. felsineus.

Способность пектиноразлагающих бактерий восстанавливать сульфаты полностью подтвердилась при мочке льна в аммиачно-карбонатных буферных растворах. Вопрос о мочке в буферных растворах освещается нами в специальной статье [1].

Таблица 2

Сравнительные количества H_2S в культурах возбудителей мочки льна на синтетической забуференной среде на 20-е сутки развития

№ опыта	H_2S в мг/л		
	культура		
	выделенный автором возбудитель (исходный pH=8,5)	Gr. pectinovorum (исходный pH=8,2)	Bac. felsineus (исходный pH=7,6)
1	131,4	58,0	14,10
2	98,2	89,0	18,2
3	104,9	91,0	12,1
4	151,6	72,2	19,4
5	200,6	44,0	10,2
6	102,1	60,0	8,0
7	87,0	69,4	6,0
8	164,0	48,6	16,0
9	110,0	80,2	6,8
10	104,0	42,4	12,2

При добавлении к аммиачно-карбонатному раствору $FeSO_4$ мы наблюдали восстановление сульфата — интенсивное почернение мочильной жидкости и льняного снопа, вследствие образования сернистого железа. Опыты состояли в следующем: к аммиачно-карбонатному раствору, полученному путем насыщения 0,15%-ного раствора аммиака углекислым газом из баллона и разлитому в сосуды Фрибеса по 900 мл, было добавлено закисное сернокислое железо в количестве 0,2 и 0,1%.

Вследствие того что компоненты аммиачно-карбонатного раствора связывают летучие кислоты, pH мочильной жидкости постепенно и более или менее плавно смещается в кислую сторону, благодаря чему создается возможность повторного вымачивания льна в одной и той же жидкости без добавления каких-либо веществ, кроме воды, для сохранения гидромодуля.

При добавлении к аммиачно-карбонатному раствору $FeSO_4$ мы наблюдали восстановление сульфата — интенсивное почернение мочильной жидкости и льняного снопа вследствие образования сернистого железа. Опыты заключались в следующем: к аммиачно-карбонатному раствору, полученному путем насыщения 0,15%-ного раствора аммиака из баллона с углекислым газом и разлитому в сосуды Фрибеса по 900 мл, было добавлено закисное сернокислое железо в количестве 0,2%, 0,1%, 0,05% по отношению к объему жидкости (табл. 3, 4, 5), при этом добавление $FeSO_4$ смещает pH в кислую сторону пропорционально концентрации. Интенсивное восстановление сульфатов происходит в первой мочке в щелочной забуференной мочильной жидкости, при этом сероводород, соединяясь с железом, образует сернистое железо, придающее мочильной жидкости и льняному снопу интенсивно черную окраску. При дальнейшем повторном использовании мочильной жидкости сернистое железо, образованное в первой мочке, становится в условиях кислого pH источником образования сероводорода в мочильной жидкости. Таким образом, в кислой среде практически десульфатизация отсутствует. По мере того как возрастает кислотность мочильной жидкости, количество FeS в ней уменьшается, а следовательно, убывает и количество H_2S. После каждой повторной мочки мочильная жидкость становится светлее и постепенно принимает свой обычный желто-бурый цвет.

В табл. 3, 4, 5 приводятся результаты опытов с различной концентрацией $FeSO_4$, в забуференной мочильной жидкости. Наиболее интен-

Таблица 3

Динамика pH и количество H_2S в условиях повторных мочек льна и аммиачно-карбонатном буферном растворе, с 0,2% $FeSO_4$ при исходном pH=7,4

№ мочки	Конечный pH	H_2S в мг/л
1	6,80	170,0
2	6,40	104,0
3	5,70	56,0
4	5,55	28,0
5	5,25	Следы

Таблица 4

Динамика pH и количество H_2S в условиях повторных мочек льна в аммиачно-карбонатном буферном растворе с 0,1% $FeSO_4$ при исходном pH=7,7

№ мочки	Конечный pH	в мг/л
1	7,25	201,0
2	6,70	115,0
3	6,40	87,0
4	6,00	47,0
5	5,50	Следы

Таблица 5

Динамика pH и количество H_2S и продолжительность вымочки льна в условиях повторных мочек в аммиачно-карбонатном буферном растворе с 0,05% $FeSO_4$ при исходном pH=8,2

№ мочки	Конечный pH	H_2S в мг/л	Продолжительность мочки в часах		% ускорения
			с $FeSO_4$	контрольная в аммиачно-карбонатном растворе без $FeSO_4$	
1	7,60	250,0	60	80	25,0
2	7,10	136,0	40	70	43,0
3	6,70	98,0	44	66	33,3
4	6,20	68,0	48	72	33,3
5	5,90	44,0	60	79	24,1
6	5,50	Следы	72	80	10,0
7	5,20	Нет	96	98	—

сивное восстановление сульфатов наблюдалось в сосуде Фрибеса с более щелочной реакцией среды (табл. 5), менее интенсивное восстановление сульфатов имело место при более кислом значении pH (табл. 3) и при большем процентном содержании $FeSO_4$. Эти опыты показывают отчетливую зависимость между реакцией среды и количеством образующегося в первой мочке сероводорода.

В табл. 5 приводятся данные о продолжительности мочки льна в забуференной мочильной жидкости в присутствии $FeSO_4$. В качестве контроля дана продолжительность вымочки льна в аммиачно-карбонатном буферном растворе без добавления $FeSO_4$, следовательно не содержащем H_2S.

По данным табл. 5 видно, что мочка льна в буферном растворе в присутствии H_2S проходит быстрее (ускорение от 10 до 43). Это ускорение можно объяснить изменением окислительно-восстановительного потенциала среды в сторону, благоприятную для развития возбудителей пектинового брожения. Если же в качестве контроля взять продолжительность вымочки в незабуференной мочильной жидкости, т. е. обычную мочку — 100—120 часов, то процент ускорения при мочке в забуференных растворах с $FeSO_4$ будет значительно выше.

Бейеринк и ван-Дельден [9] сделали попытку применить сероводородную воду для мочки льна, но в их опытах сероводород в количестве 50 мг на 1 л вызывал длительную задержку мочки. Видимо, опыт проходил в условиях кислого pH.

Для десульфирующих бактерий, как показал Пельш, развитие, а следовательно, и восстановление сульфатов возможны лишь в интервале pH от 9,5 до 6,8. По нашим наблюдениям, восстановление сульфатов при мочке льна наблюдается только в интервале pH от 9,5 до 7,2.

Как установил Палей [2], сдвиг pH в кислую сторону вызывает увеличение концентрации свободного сероводорода.

Пельш [3] показал, что развитие Sporovibrio и редукция сульфатов останавливаются при достижении предельной токсической концентрации свободного сероводорода.

В наших опытах мы не только не отмечаем угнетающего влияния H_2S (при сравнительно невысокой его концентрации) на течение мочки и развитие основной и сопутствующей микрофлоры, но констатировали ускорение этих процессов.

Волокно, полученное в результате вымочки в буферных растворах с применением $FeSO_4$, имеет умеренную дымчатую окраску, напоминающую сланцевое волокно.

Способность пектиновых бактерий восстанавливать сульфаты в забуференной мочильной жидкости вызывает необходимость постановки опытов в более широком масштабе с целью определения качества волокна, получающегося в этих условиях, и выяснения возможности применения явления восстановления сульфатов при промышленных способах мочки льна.

Изложенный материал расширяет круг неспециализированных групп микроорганизмов, способных восстанавливать сульфаты, а в совокупности с уже накопившимися в литературе сведениями указывает на необходимость пересмотра старых представлений о распространении и биологическом значении процесса десульфатизации у микроорганизмов.

Выводы

1. Возбудители мочки льна в щелочной забуференной среде способны восстанавливать сульфаты, причем интенсивность этого процесса больше всего выражена у нового выделенного нами возбудителя мочки льна, в меньшей степени у Gr. pectinovorum и в слабой степени у Bac. felsineus.

2. Редукция сульфатов наблюдается не только в условиях чистой культуры возбудителей мочки льна, но и при самопроизвольной мочке льна в забуференной мочильной жидкости в интервале pH от 7,2 до 9,5.

3. Развитию анаэробных возбудителей мочки льна благоприятствует образование сероводорода в результате редукции сульфатов, что практически выражается в ускорении процесса вымочки льна.

Всесоюзный научно-исследовательский
Институт сельскохозяйственной микробиологии
Ленинград

Получено 28.III.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев В. А. Опыт применения буферных растворов для мочки льна. Тр. Всес. научно-иссл. ин-та с/х. микробиологии, XI, вып. 2. 1951.
2. Палей П. Н. Физико-химическое изучение минеральных вод и лечебных грязей. Тр. Гос. центр. ин-та курортологии, 5, 1934.
3. Пельш А. Д. К динамике десульфатизационного процесса. Тр. соляной лаборатории, вып. XIV, изд. АН СССР, 1937.
4. Рубенчик Л. И. Сульфатредуцирующие бактерии. М., 1947.
5. Рубенчик Л. И. К вопросу об источниках энергии для процесса десульфуризации в лиманах. Украинский бальнеологич. сбор., вып. 2—3, 1927.

6. Селибер Г. Л., Кацнельсон Р. С. и Седых А. Н. Разложение жира при восстановлении сульфатов микроорганизмами. Изв. научно-иссл. ин-та им. Лесгафта, 2, 1937.
7. Селибер Г. Л. La réduction des sulfates par les microorganismes en présence des graisses. C. R. des séances de Soc. d. Biologie, 49, 1928.
8. Штурм Л. Д. Морфологические и культуральные признаки факультативно-аэробных бактерий, восстанавливающих сульфаты. Микробиология., XVII, 1948.
9. Beijerink M. W. et van Delden A. Sur les bactéries actives dans le rouissage du lin, Verzamelde Geschrifetn vierde deel, 1921.
10. Prévot A. P. Recherches sur la réduction des sulfates et des sulfites minéraux par les bactéries anaérobes. Ann. Inst. Past., 75, 1948.

АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ ОТНОШЕНИЯ МЕЖДУ НЕКОТОРЫМИ МИКРОБАМИ НА ПЛОТНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

Б. Г. Вайнберг, Л. А. Бланк и Л. Е. Эйдлер

Проблема микробного антагонизма, выдвинутая еще основоположниками учения о микроорганизмах Л. Пастером и И. И. Мечниковым, стала привлекать к себе особое внимание в последнее десятилетие, главным образом, в период второй мировой войны и в послевоенный период в связи с весьма успешными и плодотворными исследованиями в области получения и использования в медицине антибиотиков.

Учение о микробном антагонизме и антибиотиках представляет собой общебиологическую, важную с методологической точки зрения проблему, тесно связанную вместе с тем и с рядом практических задач.

Данное исследование посвящено в первую очередь вопросам методики изучения микробного антагонизма.

Как будет ниже показано, мы использовали такой метод изучения микробного антагонизма на твердой питательной среде, который позволил нам количественно учитывать степень антагонистического воздействия одних микробов на другие, осуществляемого при помощи диффузионно накопляющихся в среде продуктов обмена веществ, повидимому, типа антибиотиков.

Методика испытания антагонистической активности микробов на плотной питательной среде

Для испытания антагонистической активности микробов на плотных питательных средах применяется ряд методов. Все они базируются на одном принципе — на диффузии в плотную среду антибиотических веществ, вырабатываемых микробом-антагонистом, и образовании ввиду этого вокруг колонии антагониста зоны отсутствия роста тест-микроба, зоны просветления. По величине этой зоны можно судить о силе антибиотического воздействия со стороны микроба-антагониста, о количестве накапливающихся в зоне роста последнего антибиотических веществ.

Для изучения антагонистических отношений, наблюдаемых при выращивании микробов на плотных питательных средах, нами в данной работе был использован несколько иной, оригинальный метод, разработанный одним из нас (Б. Г. Вайнбергом) еще в 1938/39 г., доложенный в свое время в Одесском обществе микробиологов, эпидемиологов и инфекционистов. Этот метод был применен, наряду с другими методами, Листенгартен [1], для изучения антибиотической активности некоторых видов дрожжей.

Сущность метода заключается в следующем: в чашку Петри, имеющую в диаметре 10 см, наливается 30 мл расплавленного питательного агара (в наших опытах мы пользовались мясо-пептонным агаром, pH = 7,2—7,4). После застывания среды, особым сконструированным нами штампиком в трех участках агаровой пластинки, при соблюдении всех условий стерильности, вырезаются три круглых «островка». Находящийся между «островками» излишек агара удаляется, так что «островки» остаются изолированными друг от друга.

Штампик представляет собой металлический цилиндрик высотой в 1,1 см с режущим краем в виде окружности, имеющей диаметр 4 см, закрытый сверху и снабженный рукояткой. В верхней части штампика просверлены два небольших отверстия для прохождения воздуха, вытесняемого в момент вырезания «островков».

Режущий край штампика при пользовании им подвергается предварительной стерилизации путем погружения в спирт и обжигания.

Два «островка» (условно № 1 и 2), находящиеся на чашке, являются опытными, а третий (условно № 3) — контрольным. На обоих опытных «островках» по их периферии (по кругу) наносится взвесь микроба, антагонистическая способность которого проверяется. В процессе роста и развития этого микроба на периферии «островка» образуется кольцевая культура антагониста шириной в 2—3 мм, а вырабатываемые им продукты метаболизма диффундируют в агар. На третьем (контрольном) «островке» посев микроба-антагониста не производится.

Опыт испытания антагонистического воздействия того или иного микроба на соответствующий тест-микроб ставится следующим образом.

После приготовления указанным выше способом серии из шести чашек, где на опытных «островках» сделаны посевы микроба-антагониста, в первую из них (чашку № 1), в центр каждого из трех «островков» наносится одинаковой величины капля суспензии тест-микроба в физиологическом растворе или в бульоне. После подсыхания нанесенных культур все чашки помещаются в термостат при благоприятной для культивируемых видов температуре. Спустя 5—6 часов инкубации в термостате производится подсев подавляемого микроба в центр каждого из трех «островков» чашки № 2. Последующие подсевы подавляемого микроба на «островки» чашек № 3, 4, 5 и 6 производятся соответственно спустя 24, 48, 72, 96 часов инкубации.

После подсева тест-микроба чашки выдерживаются в термостате сутки. В центре контрольного «островка» за это время вырастает обычно гигантская колония тест-микроба. Что касается опытных «островков», то в том случае, если бактериостатическое воздействие со стороны кольцевой культуры микроба-антагониста отсутствует, в центре последних развиваются гигантские колонии тест-микроба, по размерам такие же, как и на контрольном «островке»; при наличии сильного антагонистического воздействия в центре опытных «островков» роста нет совсем, при неполном же подавлении роста развиваются разной величины колонии, меньшие по размерам, чем таковые на контрольном «островке».

Описываемый нами метод в большинстве случаев позволяет вполне объективно учесть количественно силу антагонистического воздействия со стороны микроба-антагониста на тест-микроб. Для этого в центральной части «островков» вырезаются кусочки агара с сидящими на них колониями тест-микроба и помещаются в пробирки, в которые заранее налито одинаковое количество физиологического раствора. Через некоторое время бактериальная масса сползает с поверхности агара. Получаются взвеси бактерий разной густоты в пробирках № 1 и 2, смытые с опытных «островков», а в пробирке № 3 — с контрольного. Если теперь густоту микробной суспензии, полученной с контрольного «островка» (пробирка № 3), условно принять за 1, а затем разводить ее физиологическим раствором во столько раз, сколько необходимо для того, чтобы уравнять концентрацию в этой пробирке с концентрацией микробов в пробирках № 1 и 2, то можно дробью выразить степень (индекс) бактериостатического воздействия.

Например, микробная суспензия в пробирке № 1 соответствовала взвеси в пробирке № 3, разведенной в 6 раз; антагонистическое воздействие со стороны микроба-антагониста в данном случае выразилось индексом 1 : 6 или 0,17; для пробирки № 2 аналогичным образом полу-

ченный индекс выразился показателем 1 : 7 или 0,14, в среднем антагонистический индекс для данной антагонистической системы оказался равным (0,17 + 0,14) : 2 = 0,15. Чем ближе антагонистический индекс к 0, тем сильнее бактериостатическое воздействие. Отсутствие антагонистического эффекта обозначается индексом 1, полный эффект соответствует индексу 0 (рис. 1).

В качестве микробов-антагонистов нами использованы 7 штаммов кишечной палочки, 3 штамма Bact. pyocyaneum и 6 штаммов Bact. prodigiosum.

В качестве тест-микробов использованы 1 штамм золотистого стафилококка, 3 штамма вульгарного протея, 1 — Bact. proteus X_{19}, 2 — Bact. fluorescens liquefaciens, 1 — Bac. mesentericus и 1 — Bac. mycoides.

Антагонистическая активность изучалась нами на плотной (агаровой) среде по вышеописанной методике и в части случаев на жидкой, как это описывается ниже. Средние показатели антибиотической активности испытанных культур микробов-антагонистов на агаровой среде приведены на табл. 1.

Таблица 1

Показатели антибиотической активности изученных микроорганизмов на плотной (агаровой) среде (средние данные ряда опытов)

Микроб-антагонист	Тест-микроб	Индексы антибиотической активности					
		Одновремен. посев	Посев тест-микроба спустя				
			5 час.	24 час.	48 час.	72 час.	96 час.
Bact. pyocyaneum (3 штамма)	Стафилококк (1 штамм)	1	0,83	0	0	0	0
	Bact. proteus (4 штамма)	0,85	0,7	0,13	0	0	0
	Bact. fluor. liquefaciens (2 штамма)	0,94	0,8	0,6	0,25	0,08	0
	Bac. mesentericus (1 штамм)	1	1	0,18	0	0	0
	Bac. mycoides (1 штамм)	0,6	0,4	0,1	0	0	0
Bact. coli (7 штаммов)	Стафилококк	0,72	0,63	0,28	0,11	0	0
	Bact. proteus	0,89	0,77	0,53	0,15	0,01	0
	Bact. fluor. liquefaciens	0,93	0,8	0,51	0,23	0,02	0
	Bac. mesentericus . . .	0,95	0,8	0,37	0,04	0	0
	Bac. mycoides	0,92	0,71	0,28	0	0	0
Bact. prodigiosum (6 штаммов)	Стафилококк	1	0,89	0,63	0,26	0	0
	Bact. proteus	0,92	0,87	0,7	0,3	0,1	0,02
	Bact. fluor. liquefaciens .	1	0,97	0,79	0,38	0,16	0,12
	Bac. mesentericus . . .	0,94	0,92	0,48	0	0	0
	Bac. mycoides	0,86	0,83	0,34	0,18	0,08	0

Антагонистическая активность на плотной (агаровой) среде

В наших исследованиях наиболее высокую чувствительность как тест-микроб по отношению к палочке сине-зеленого гноя обнаружил Bac. mycoides. Высокую степень антагонистической активности со сто-

Рис. 1. На периферии агаровых «островков» кольцевая культура Bact. prodigiosum № 1266/717 двухсуточного возраста; в центре — отсутствие роста B. mycoides № 79. На контрольном «островке» — гигантская колония B. mycoides.

роны Bact. pyocyaneum мы могли констатировать также и по отношению к стафилококку.

Несколько более устойчивыми оказались культуры протея и Bac. mesentericus; наиболее устойчивыми — культуры Bact. fluorescens liquefaciens (табл. 1).

В итоге наблюдений над Bact. pyocyaneum мы пришли к заключению, что примененный нами метод изучения антагонизма на агаровой среде является весьма демонстративным. Было также обнаружено, что штаммы Bact. pyocyaneum как антагонисты неравноценны. В наших исследованиях наиболее активным оказался штамм № 663.

Что касается кишечной палочки, то, как видно из табл. 1, средние показатели антибиотической активности этого микроба ниже соответствующих показателей палочки сине-зеленого гноя.

Продукты жизнедеятельности Bact. coli в наших опытах оказались способными оказывать наибольшее антибиотическое воздействие на Bac. mycoides.

Второе место по чувствительности к микробу-антагонисту заняли стафилококки и Bac. mesentericus.

Близкие по своей величине показатели роста в условиях антагонизма дали штаммы протея и Bact. fluorescens liquefaciens, занявшие как тест-микробы по своей устойчивости третье место.

Следовательно, при изучении антагонизма между кишечной палочкой и использованной в наших опытах группой протеолитических аэробных бактерий резко выраженной степени антибиоза на плотной среде нам наблюдать не удалось.

Чудесная палочка в наших опытах оказалась менее выраженным (по сравнению с Bact. pyocyaneum и Bact. coli) микробом-антагонистом).

Наиболее чувствительным к действию продуктов жизнедеятельности Bact. prodigiosum (табл. 1) оказался Bac. mesentericus, второе место заняли Bac. mycoides и стафилококк. Весьма мало чувствительными к антагонистическому действию продуктов жизнедеятельности чудесной палочки оказались штаммы протея и особенно Bact. fluorescens liquefaciens.

Мы убедились, таким образом, что изученные нами представители аэробной гнилостной группы бактерий в общем выявили довольно высокую устойчивость к воздействию на них чудесной палочки как микроба-антагониста.

Нам казалось далее интересным сопоставить данные, полученные нами на плотной питательной среде, с данными, характеризующими антибиотическую активность фильтратов бульонных культур, полученных в результате разных сроков инкубации микробов-антагонистов при 37°.

Опыты с фильтратами бульонных культур

Для получения фильтратов бульонных культур мы пользовались обычным мясо-пептонным бульоном, pH = 7,3—7,4. В бульон засевались ранее перечисленные микробы-антагонисты. Инкубация культур производилась при 37° в течение 24—48—72—96 часов, после чего полученные культуры разного возраста фильтровались через фильтры Зейтца. Фильтраты прогревались при 70° в течение 30 минут и затем выдерживались в термостате при 37° не менее 7 суток для контроля на стерильность. Далее следовало испытание их на наличие термостабильных бактериостатических веществ по отношению к использованным в данной работе тест-микробам, для чего последние в одно и то же время засевались в количестве одной нормальной петли в 1 мл чистого фильтрата и в такие же количества фильтрата, разведенного 1 : 5 и

1 : 10. Параллельно производился посев такого же количества микробной культуры в 1 мл исходного бульона (контроль).

После суточного пребывания посевов в термостате при 37° производилось сравнение степени мутности бульона в контрольной пробирке, принимавшейся за 1, и в пробирках с фильтратами, индекс роста в которых выражался дробью, представлявшей степень разведения контрольной культуры при уравнении ее мутности с мутностью засеянных тест-микробами культуральных жидкостей.

Данные, характеризующие индекс роста, сравнивались с аналогичными данными, полученными на агаровых средах.

Таблица 2

Показатели антибиотической активности некоторых изученных микробов на агаровой среде по сравнению с активностью фильтратов их бульонных культур (средние данные из ряда опытов)

Микроб-антагонист	Тест-микроб	Индексы антибиотической активности							
		подсев тест-микроба спустя							
		48 часов				96 часов			
		агаровые „островки"	фильтраты бульонных культур			агаровые „островки"	фильтраты бульонных культур		
			неразведенные	разведенные			неразведенные	разведенные	
				1 : 5	1 : 10			1 : 5	1 : 10
Bact. pyocyaneum	Bact. proteus . . .	0	0,45	0,72	1,0	0	0,35	0,55	0,62
	Bact. fluor. luquef.	0	1,0	1,0	1,0	0	0,42	0,83	1,0
	Bac. mesentericus.	0	0,3	0,83	0,89	0	—	—	—
	Bac. mycoides . .	—	—	—	—	0	0,25	0,66	1,0
Bact. coli	Стафилококк. . .	0,11	0,13	0,5	1,0	—	—	—	—
	Bact. proteus . . .	—	—	—	—	0	0,41	0,62	0,86
	Bact. fluor. liquef.	0,23	0,63	0,83	0,89	0	0,58	0,63	0,71
	Bac. mesentericus	0,04	0,5	1,0	1,0	0	0,4	0,7	0,91
	Bac. mycoides . .	0	0,35	0,52	0,77	—	—	—	—
Bact. prodigiosum	Bact. proteus . . .	0,3	0,5	0,79	1,0	0,02	0,5	0,77	0,94
	Bact. fluor. liquef.	0,38	1,0	1,0	1,0	0,12	0,61	0,87	0,81
	Bac. mesentericus	0	0,61	0,91	1,0	0	0,33	0,5	0,55
	Bac. mycoides	0,08	0,5	0,81	1,0	0	0,12	0,33	0,5

Сопоставление выборочных данных, указанных в табл. 2, показывает, что антибиотическая активность культурального фильтрата, как правило, была ниже антибиотической активности, установленной нами на агаровой среде.

Несоответствие между данными опытов по изучению антагонистических отношений на плотных средах и наличием антибактериальных продуктов в фильтратах жидких культур отмечено рядом исследователей. В частности, в последнее время такие данные приведены в работе Перетца и Нечаевой [2]. Указанные авторы, обнаружившие у антагонистически полноценных кишечных палочек антибиотические вещества, диффундирующие в агар, совсем не обнаружили таковых в фильтратах бульонных культур. Наши данные, приведенные выше, хотя и не совпадают полностью с данными Перетца и Нечаевой, однако вполне определенно указывают на то, что в агаровой среде накопление бактериостатических веществ при росте использованных нами микробов-антагонистов происходит интенсивнее, чем соответственно в жидких средах.

Выводы

1. Описывается новый оригинальный метод наблюдения и количественного учета микробного антагонизма на плотной питательной среде (метод «островков»).

В качестве микробов-антагонистов использованы палочка сине-зеленого гноя, кишечная палочка, чудесная палочка. Тест-микробами служили культуры протея, Bact. fluorescens liquefaciens, Bac. mesentericus, Bac. mycoides и золотистого стафилококка.

2. При испытании антибиотической активности изученных нами микробов по отношению к воздействию палочек сине-зеленого гноя на агаровой среде с использованием метода «островков» примененные нами тест-микробы обнаружили убывающую чувствительность в следующем порядке: Bac. mycoides, стафилококк, протей, Bac. mesentericus и Bact. fluorescens liquefaciens.

3. В тех же условиях по отношению к кишечной палочке по убывающей степени чувствительности тест-микробы могут быть расположены в таком порядке: Bac. mycoides, стафилококки, Bac. mesentericus, протей, Bact. fluorescens liquefaciens.

4. Наименее выраженным микробом-антагонистом в наших опытах на агаровой среде оказалась чудесная палочка. По отношению к антагонистическому воздействию этой палочки примененные нами тест-микробы по убывающей чувствительности могут быть расположены в таком порядке: Bac. mesentericus, Bac. mycoides, стафилококки, протей, Bact. fluorescens liquefaciens.

5. Фильтраты бульонных культур указанных выше микробов-антагонистов оказались менее активными по сравнению с веществами, выделяемыми этими же микробами в агар.

Одесский фармацевтический институт *Получено 12.V.1950 г.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Листенгартен Э. Л. К вопросу об антибиотических свойствах некоторых видов дрожжей. Тр. Дагестанск. мед. ин-та, III, 111—113, 1947.
2. Перетц Л. Г. и Нечаева З. А. Нормальная микрофлора носа, ее антагонистические и антибиотические свойства. Журн. микроб., эпид. и иммун., № 1, стр. 8—13. 1949.

ПЛОДЫ И СЕМЕНА ЛИМОНА — ИСТОЧНИКИ ЗАРАЗНОГО НАЧАЛА ИНФЕКЦИОННОГО УСЫХАНИЯ («МАЛЬСЕККО»)

К. М. Степанов и *В. И. Шалышкина*

В борьбе с инфекционным заболеванием растений важное значение имеют санитарно-профилактические мероприятия, ликвидирующие источники заразного начала. При своевременном и тщательном проведении этих мероприятий возможно значительно ограничить распространение болезни на зараженной территории и предотвратить ее проникновение в новые районы.

Как известно, источниками заразного начала усыхания лимонов являются больные деревья, если своевременно не производится тщательная обрезка их, а также отрезки больных ветвей и побегов, листья и плоды опадающие с больных деревьев (Степанов [1]).

Признаки поражения инфекционным усыханием отмечались также и на корнях лимонов. Таким образом, возбудитель болезни заселяет больное дерево сплошь, и при известных условиях любая его часть может оказаться источником заразного начала.

При семенном размножении лимонов, имеющем место в ряде случаев, встает вопрос о возможности распространения болезни плодами и семенами. Этот вопрос имеет важное практическое значение. Для его освещения мы провели некоторые исследования, результаты которых сообщаются ниже.

В сентябре 1949 г. нами были собраны плоды лимона, опавшие с больных деревьев. Плоды были мелкие, в большинстве случаев желтой окраски, с отдельными коричневыми пятнами на кожице. Эти плоды были использованы для постановки ряда экспериментов, имевших целью установить наличие возбудителя «мальсекко» в различных частях плода, возможность образования его пикнид на плодах и свободных (извлеченных из плодов) семенах и стойкость гриба, находящегося в плодах и семенах, к воздействию неблагоприятных температур.

Эксперименты с плодами и семенами были начаты через месяц после их сбора. С основания и вершины плодов бралась кожица с подстилающей ее белой мякотью, и частицы ее помещались на поверхность картофельного агара в чашках Петри. На агар помещались также сформировавшиеся семена и их зачатки. Первые имели в большинстве случаев нормальную окраску с потемнением утолщенной части.

Уже на второй день наблюдался рост мицелия Deuterophoma tracheiphila на кусочках плодов и семенах. На третий-четвертый день рост был хороший, и в дальнейшем он все более усиливался (рис. 1). На десятый день наблюдалось образование пикнид.

В дальнейших опытах культура гриба выделялась свободно из всех частей плода: из кожицы и белой мякоти, из плаценты и, наконец, из семян и их зачатков. Таким образом, вопреки указаниям в литературе, возбудитель инфекционного усыхания пронизывает весь плод лимона, включая семена.

Одновременно с описанными анализами нами был поставлен опыт с образованием пикнид на пораженных плодах. С этой целью плоды помещались в чашки Коха. В течение опыта часть плодов находилась в постоянно увлажненном состоянии (плоды наполовину заливались водой), другая часть подвергалась переменному (посуточному) увлажнению и

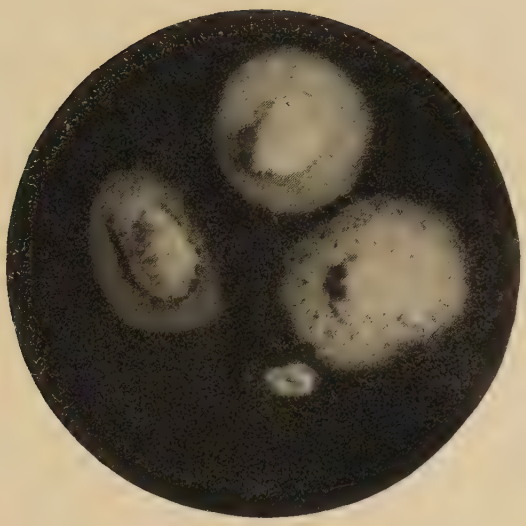


Рис. 1. Колония Deuterophoma tracheiphila на семенах из плодов лимона, собранных под больными деревьями (картофельный агар). $^3/_4$ натуральной величины

Рис. 2. Пикниды D. tracheiphila на семенах лимона (образовались при увлажнении семян). Увеличено в $3^1/_2$ раза

подсушиванию, и, наконец, третья часть плодов оставалась в воздушно-сухом состоянии. Этот опыт протекал в условиях комнатной температуры, в пределах 15—20°. Параллельно первый и третий варианты опыта были поставлены при температуре 10—12° (плоды были выставлены между рамами окна). Результаты опыта представлены в табл. 1.

Таблица 1

Образование пикнид D. tracheiphila на плодах лимона

Вариант опыта	Всего плодов	Число плодов, на которых появились пикниды	Время появления пикнид в днях	Количество пикнид
При температуре 15—20°				
Плоды, постоянно увлажняемые . .	10	3	11—13-й	Единичные
Плоды, переменно увлажняемые . .	10	2	11-й	Небольшие группы пикнид
Плоды воздушно-сухие	10	0	—	Отсутствие пикнид
При температуре 10—12°				
Плоды, постоянно увлажняемые . .	7	5	7-й	Много больших групп пикнид
Плоды воздушно-сухие	10	0	—	Отсутствие пикнид

Примечание. При температуре 15—20° постоянно увлажнявшиеся плоды ослизнялись; на них было много бактерий и Penicillium. Колонии этого гриба также отмечены на потемневших плодах при переменном увлажнении. При температуре 10—12° за время опыта плоды только потемнели.

Из плодов, на вид нормальных, желтой окраски, а также из потемневших с загнивающей, потемневшей мякотью нами стерильно извлекались семена и их зачатки. Семена из внешне нормальных плодов были светлые, без признаков потемнения или загнивания, а семена из буроватых плодов были потемневшие, особенно в утолщенной части. Семена в количестве 52 штук, помещались в чашки Петри на фильтровальную бумагу, и в дальнейшем производилось переменное увлажнение и подсушивание семян. Чашки с семенами были выставлены между рамами окна, где они находились в течение всего опыта при температуре 10—12°. Семена, извлекаемые из потемневших плодов, при увлажнении проявляли розовато-оранжевую окраску, напоминающую таковую на срезах пораженных побегов.

На 37 семенах, т. е. в 71% случаев, было отмечено образование пикнид D. tracheiphila. Пикниды появлялись на семенах, извлеченных как из внешне нормальных, так и из плодов буроватых, с загнивающей мякотью. Они покрывали поверхность семени и были хорошо заметны для невооруженного глаза (рис. 2). Таким образом, образование спороношений возбудителя «мальсекко» имеет место и непосредственно на семенах, причем для этого необходимы те же условия, что и для плодов.

Описанный опыт ясно показывает, что и семена являются источником заразного начала инфекционного усыхания лимонов, и при известных условиях они могут явиться причиной возникновения нового очага болезни.

Одним из авторов настоящей работы (Шалышкина [2]) было установлено, что возбудитель инфекционного усыхания лимонов, находящий-

ся в больных плодах и свободных семенах, проявляет высокую стойкость к длительному воздействию сильных морозов, а также повышенной температуры (+30°). Здесь мы считаем необходимым привести подробности опытов по влиянию на жизнестойкость гриба низких температур, представляющих, по нашему мнению, наибольший интерес.

Извлеченные из плодов семена помещались в чашки Петри на обильно увлажненную фильтровальную бумагу (семена сплошь смачивались водой). Параллельно семена, только что извлеченные из плодов, помещались в чашки на сухую бумагу. Обе группы семян выставлялись за окно на мороз. Одновременно там же помещались увлажненные и воздушно-сухие плоды. Увлажнявшиеся плоды и семена оказались сплошь вмерзшими в лед.

Через восемь суток, в течение которых температура держалась на уровне от —25 до —30°, семена, подвергшиеся непосредственно охлаждению, и семена, извлеченные из плодов после их охлаждения, помещались на картофельный агар. Часть семян помещалась в чашки на фильтровальную бумагу, где они подвергались переменному увлажнению и подсушиванию. Во всех случаях анализу подвергались нормально сформировавшиеся и щуплые семена, а также их зачатки. Результаты опыта представлены на табл. 2 и 3.

Таблица 2

Влияние холода (от —25 до —30° в течение 8 суток) на жизнеспособность D. tracheiphila в семенах лимона (посев на агар)

Вариант опыта	Число семян в опыте	Число семян, проявивших рост мицелия	Время появления пикнид в днях	Количество пикнид
Семена охлаждались во влажном состоянии	22	20	7-й	Много
Семена охлаждались без увлажнения	30	30	7-й	„
Семена не охлаждались (контрольные)	8	8	10—11-й	Средне

Таблица 3

Влияние холода (от —25 до —30° в течение 8 суток) на жизнеспособность D. tracheiphila в семенах и плодах лимона

Вариант опыта	Число семян в опыте	Число семян, на которых появились пикниды	Время появления пикнид в днях	Количество пикнид
Свободные семена увлажнявшиеся	16	6	7-й	Много
Свободные семена без увлажнения	16	6	7-й	„
Семена из охлаждавшихся влажных плодов	30	2	11-й	„
Семена из охлаждавшихся сухих плодов	30	27	10-й	„

Примечание. Семена после охлаждения в свободном состоянии и в плодах помещались в условия переменного увлажнения для образования пикнид.

Одновременно с этим опытом за окно на мороз было выставлено 10 плодов лимона, которые в воздушно-сухом состоянии находились там 21 сутки, в течение которых температура колебалась от —1 до —30° с преобладанием более низких температур. Во всех случаях, за исключением одного плода, который оказался незараженным, гриб легко перенес длительное охлаждение: посевы разнообразных частиц плодов на картофельный агар дали рост мицелия и образование пикнид. Последние, кроме того, свободно образовались на семенах, извлеченных из промороженных плодов и находившихся затем в лаборатории в условиях переменного увлажнения. Описанные выше опыты ясно показали высокую жизнестойкость возбудителя усыхания лимонов к значительным морозам.

Приведенные материалы наших исследований показывают, что плоды лимонов, собираемые с больных деревьев, обычно сплошь заселены возбудителем инфекционного усыхания. Как в плодах, так и в извлеченных из них семенах гриб может длительно сохраняться в неблагоприятных условиях, выдерживая такие низкие температуры, как —25 и —30°. При попадании в благоприятные, умеренные температуры и условия увлажнения гриб обильно спороносит на плодах и извлеченных из них семенах.

Плоды и семена с больных деревьев, попадая в незараженные хозяйства и районы, могут явиться источником возникновения новых очагов инфекционного усыхания. Такая возможность наиболее вероятна при семенном размножении лимонов. Пути такого распространения болезни необходимо иметь в виду при культуре лимонов, особенно при продвижении ее в новые районы. Основным мероприятием, исключающим возможность распространения этим путем заразного начала, является недопущение плодов и семян из зараженных хозяйств в новые районы цитрусоводства. Во всех случаях использования семян из зараженных районов необходима их фитопатологическая экспертиза. Она сводится главным образом к посеву семян на картофельный агар. При наличии зараженности семян на них появляются пикниды D. tracheiphila. Такой материал должен немедленно уничтожаться.

Выводы

1. Плоды лимона с больных деревьев так же заражаются D. tracheiphila, как и остальные части дерева.
2. При благоприятных для развития гриба условиях температуры и влажности на зараженных плодах и семенах обильно образуются пикнидиальные спороношения.
3. Мицелий гриба проявляет высокую стойкость к низким температурам: при благоприятных условиях на подвергшихся охлаждению плодах и семенах появляются пикниды.
4. Зараженные плоды и семена лимона являются источниками заразного начала и могут создать новые очаги болезни. Для предотвращения этого нельзя допускать в новые хозяйства и районы плоды и семена из зараженных хозяйств.

Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений
Ленинград

Получено 5.VI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Степанов К. М. Об источниках заразного начала инфекционного усыхания («Мальсекко») лимонов. Доклады ВАСХНИЛ, 8, 38, 1950.
2. Шалышкина В. И. О жизнестойкости гриба Deuterophoma tracheiphila, вызывающего инфекционное усыхание лимонов («Мальсекко»). Тр. Всес. ин-та защиты растений, 3, 153, 1951.

BAC. POLYMYXA КАК ВОЗБУДИТЕЛЬ МЯГКОЙ ГНИЛИ

Л. П. Старыгина

При исследовании причин гнили семенников капусты нами наряду с другими возбудителями гнили [5] были выделены из больных семенников культуры Bac. polymyxa. Эти культуры отличались повышенной способностью вызывать гниль ломтей и целых кочерыг, а в определенных условиях и капустной рассады. Это дало нам основание отнести культуру Bac. polymyxa к числу возбудителей мягкой гнили семенников капусты.

Культура Bac. polymyxa долгое время оставалась вне внимания фитопатологов, и только в последнее время в литературе начали появляться указания на ее роль в заболевании растений.

Наблюдая разложение клубней картофеля, лука, дыни при искусственном заражении их культурой Bac. polymyxa, Dowson [8] высказывает предположение, что в определенных условиях эта культура может вызывать заболевание растений. Более определенно высказывает эту мысль Davidson [7], считая Bac. polymyxa таким же возбудителем гнили картофеля, как Erw. carotovora, Erw. aroideae и Bac. mesentericus. В дальнейшем Volcani и Dawson [13] наблюдали в естественных условиях заболевание плодов перца, вызванное Bac. polymyxa. Обнаружение большого количества Bac. polymyxa в почве (Alberta) заставило Jackson и Henry [10] высказать предположение о значении данной почвы в возникновении заболеваний. Нам был непонятен факт такого редкого обнаружения культуры Bac. polymyxa при исследовании случаев загнивания овощей, наряду с частым упоминанием об обнаружении культуры Erw. carotovora. Это могло быть следствием малой распространенности Bac. polymyxa как возбудителя ввиду повышенной требовательности ее к условиям, способствующим проявлению патогенных свойств, или трудности дифференцировки этих двух культур.

Ввиду того что меры борьбы с заболеваниями, вызываемыми культурами Erw. carotovora и Bac. polymyxa, при одинаковых признаках заболевания должны быть различны [4], нами было произведено сравнительное изучение этих двух культур по морфологическим и культуральным особенностям, а также и по патогенности.

Сравнение морфолого-культуральных особенностей культур Bac. polymyxa и Erw. carotovora

Морфолого-культуральные особенности культур Bac. polymyxa характеризуются исключительной вариабильностью. Особенно резко вариабильность наблюдается в отношении формы колоний, характера роста на различных средах, формы клетки, а также окраски по Граму и образования газа и кислоты на средах с углеводами. Форма колоний у культуры Bac. polymyxa в зависимости от состава среды, частоты перевивок и т. п. изменялась от более или менее круглой с волнистыми краями (белый цвет) до расплывающейся, с образованием отростков. От тех же причин рост на твердых средах (штрихах) мог быть пышный с обильным выделением газа или более умеренный. Свежевыделенные культуры обычно красились по Граму. В дальнейшем они теряли эту способность. То же можно сказать, но в менее резкой степени, и в отношении образования кислоты и газа.

Большой вариабильностью характеризуются, согласно литературным данным, те же свойства у культуры Erw. carotovora. В связи с этим, чтобы лучше подойти к идентификации этих культур, нами было произведено сравнение их по морфологическим и культуральным признакам. Для этого были взяты музейные культуры: Erw. carotovora № 465 и Bac. polymyxa № 8523 как стандартные и культура № 1, выделенная и определенная нами как Bac. polymyxa, и № Г56 как Erw. carotovora.

Для сравнения этих культур были использованы следующие признаки: форма колоний на МПА, рост на МПА (штрих), рост на картофеле (стерильном), МПБ, способность к разжижению желатины, к свертыванию и пептонизации молока, способность к гидролизу крахмала, к редукции нитратов, к образованию индола, сероводорода, ацетилметилкарбинола (проба Фогес — Проскауэра), образование кислоты и газа на глюкозе, сахарозе, лактозе, мальтозе, манните, глицерине и сорбите, форма клетки, подвижность и окраска жгутиков, окраска по Граму и образование спор.

Культура № 1, определенная нами как Bac. polymyxa, полностью соответствовала стандартной культуре № 8523, между тем как культура № Г56, определенная нами как Erw. carotovora, отличалась от стандартной № 495 способностью разлагать крахмал и отрицательной реакцией на ацетилметилкарбинол.

Такие расхождения, как известно, характерны для бактерий, объединенных в группу Erw carotovora. Поэтому и культура, взятая нами для сравнения, была отнесена к тому же виду, тем более, что в дальнейшем нами были выделены культуры, не отличающиеся совершенно от культуры № 495.

Сравнение культур Bac. polymyxa и Erw. carotovora указывает на близкое сходство морфологических и культуральных признаков этих двух культур. Различия между ними по отдельным биохимическим признакам (гидролиз крахмала, образование ацетилметилкарбинола — проба Фогес — Проскауэра) не превышают различий культур, объединенных в группу Erw. carotovora.

Различие между Bac. polymyxa и Erw. carotovora по мальтозе теряет свое значение в связи с данными Elrod [9], который разделяет культуры Erw. carotovora по мальтозе на две серологические группы.

Культура Bac. polymyxa отличается от Erw. carotovora по характеру роста на питательных средах. Однако различия в особенностях роста были настолько незначительны, что их трудно отразить в описаниях культур и они могут быть обнаружены только при одновременном просмотре этих культур.

Существенным отличием этих двух культур является их отношение к температуре, в то время как оптимальная температура для Bac. polymyxa составляет около 35—40°, для Erw. carotovora она равнялась 25—30°.

Наиболее существенным отличием является способность их к образованию спор. Но если учесть, что это свойство, по крайней мере у отдельных культур Bac. polymyxa, очень сильно колеблется в зависимости от условий культивирования, то не всегда бывает легко их различить и по этому признаку. С целью выяснения условий, способствующих спорообразованию, было произведено изучение этого процесса у культур Bac. polymyxa.

Спорообразование у Bac. polymyxa

Определение способности выделенных нами культур Bac. polymyxa образовывать споры встретило значительные затруднения. В микроскопических препаратах, приготовленных из свежевыделенных (из растений) культур, а также и из культур, сохранявшихся несколько месяцев,

на питательных средах споры можно было обнаружить в небольшом количестве. Иногда же, в зависимости от сред, на которых выращивалась культура, от количества предварительных перевивок и др., их совсем нельзя было обнаружить.

Споры не красились карболовым фуксином, и для окрашивания их приходилось применять метод Пешкова или же несколько видоизмененный обычный метод, который состоял в том, что стекло после фиксации мазка опускалось в ванночку с нагретым карболовым фуксином, в котором оно выдерживалось при подогревании в течение 10 минут. Остальные операции (обесцвечивание кислотой и дополнительное окрашивание) производилось обычным способом.

Отмеченные выше факты могли вызвать сомнение в том, являются ли наблюдавшиеся нами включения спорами. Однако наблюдения за их образованием, прорастанием и теплоустойчивостью убедили нас в том, что мы имеем дело с процессом спорообразования, протекающим с некоторыми особенностями.

Образовавшиеся споры располагались обычно в центре клетки. Они имели овальную форму, размер их (1,7 $\mu \times 1{,}54\ \mu$) больший, чем поперечник клетки, отчего образование спор вызывало появление веретенообразных клеток. Размеры спор не всегда были одинаковы, и часто в одной и той же культуре можно было наблюдать как более крупные, так и более мелкие споры. На некоторых средах к моменту, соответствующему образованию спор в культуре, появлялись веретенобразные, хорошо окрашивающиеся обычной метиленовой синью клетки или клетки с интенсивно окрашенными зернами, но не содержащие спор. В таких культурах, при более длительном хранении, спор нельзя было обнаружить ни одним из указанных методов окраски.

Для выяснения вопроса о том, какие среды способствуют образованию спор, нами было произведено наблюдение за скоростью их образования при росте культур на различных средах (табл. 1).

Появление спор учитывалось по микроскопическим препаратам.

Таблица 1

Срок обнаружения спор (в днях) при росте культур на различных средах

№ культуры	№ и состав среды						
	№ 1, МПА (0,5% пептона)	№ 2, МПА (1,5% пептона + 1% глюкозы)	№ 3, минеральная + глюкоза	№ 4, картофель стерильный	№ 5, картофель сырой	№ 6, среда № 3 + дрожжевой автолизат	№ 7, среда № 1 + дрожжевой автолизат
1	Споры не обнаружены через 23 дня			Споры обнаружены через 5 дней			Споры не обнаружены через 12 дней
2в	Споры обнаружены через 5 дней		Споры не обнаружены через 12 дней	Споры обнаружены через 2 дня	Споры обнаружены через 5 дней		

Как видно из этих данных, появление спор очень сильно зависит от состава питательной среды, а также и от особенностей культуры.

В культуре № 1, выделенной из больного растения и хранившейся в течение двух лет в лаборатории, споры были обнаружены позднее, чем

в культуре № 2в, выделенной в этом году из загнившего клубня картофеля. Более раннее появление спор было отмечено на растительной среде (картофель): на мясо-пептонном агаре оно сильно задерживалось, а иногда нам не удавалось видеть спор на этих средах до 60 дней, что позволяло высказать сомнение в возможности образования их в этих условиях. Неблагоприятной средой для образования спор была также и минеральная с глюкозой. Однако добавление к минеральной среде дрожжевого автолизата способствовало образованию спор, что могло быть объяснено внесением специфических веществ, необходимых для их образования, содержащихся в дрожжевом автолизате.

Хотя картофель в наших опытах являлся наиболее благоприятной средой, скорость обнаружения спор на этой среде зависела от предшествующего способа культивирования бактерий. Так, предварительная перед картофелем перевивка на МПА, особенно с 1,5% пептона и 1% глюкозы, облегчала обнаружение спор. Результаты таких опытов приведены в табл. 2 [1], где в одной и той же культуре удавалось получить разное количество спор, в зависимости от того, перевивалась ли культура на МПА перед перевивкой на картофель или нет.

Таблица 2

Количество спор, образовавшихся в культуре на картофеле с предварительной перевивкой на МПА (б) и без нее (а)

Результаты нагревания культур при различной температуре в течение 10 минут

№ культуры	Возраст культуры в днях	Питательная среда	Наличие спор по препарату	Количество бактерий в 1 мл после нагревания (в % к ненагретой культуре)				
				контроль без нагревания	температура нагрева			
					65°	75°	85°	100°
13а	6	Карто-	—	100	—	0,008	0,0012	0
13б	6	фель	+	100	—	0,030	0,1200	0
47а	7	Карто-	—	100	0,55	0,03	0,03	0
47б	7	фель	+	100	13,50	65,00	3,00	0

Из данных, приведенных в табл. 2, обращает на себя внимание низкий процент спор, часто не позволяющий даже определить наличие их по микроскопическому препарату.

Отсутствие спор в культуре на некоторых питательных средах, а также временная потеря способности к спорообразованию и т. п. позволяют предполагать относительно легкую возможность получения аспорогенных рас. Такие расы, повидимому, имел в своем распоряжении Ledingham и др. [11], хотя, по нашему мнению, они должны быть трудно отличимы от Erw. carotovora.

Нагревание культур, содержащих споры, показало относительно низкую устойчивость спор к нагреванию (табл. 3).

[1] В этом опыте количество спор в культуре учитывалось по нагреванию ее при различной температуре. При этом капля водной суспензии культуры со спорами добавлялась в пробирку с водой, нагретой до определенной температуры. После выдерживания пробирки в бане при соответствующей температуре в течение 10 минут 1 мл жидкости высевался на МПА в чашку Петри.

Таблица 3

Результаты нагревания в течении 10 минут культур, содержащих споры
Количество колоний, выросших на МПА

№ культуры	Без нагревания	Температура нагревания			
		85°	90°	95°	100°
1	572 000	360 000	80	3	0
2в	18 000	16 000	6 860	0	0

Об устойчивости вегетативной клетки говорят данные, приведенные в табл. 4.

Таблица 4

Результаты нагревания суточной культуры на картофеле
Количество колоний, выросших на МПА после нагревания в течение 10 минут

№ культуры	Без нагревания	Температура нагревания					
		40°	45°	50°	55°	60°	65°
1	1 600 000	1 660 000	8 600	60	1	0	0
2в	2 750 000	1 980 000	80 000	1 260	1 300	1 020	2 140

Подводя итоги проведенным исследованиям, можно отметить, что процесс спорообразования у культур Bac. polymyxa, выделенных из больных семенников, имеет много общего с процессом спорообразования у ацетоно-этиловых бактерий и характеризуется значительным своеобразием и неустойчивостью [3]. Для его осуществления нужны определенные условия.

Таким образом, процесс спорообразования у Bac. polymyxa не является типичным, что справедливо отражено в названии «факультативно-споровых», данном в работе Porter и др. [12] по отношению культурам Bac. polymyxa и Bac. macerans.

Такие особенности процесса спорообразования, по нашему представлению, должны соответствовать свойствам переходных форм между споровыми и бесспоровыми.

Чтобы дополнить наши данные о сходстве этих культур, нами было произведено сравнение их по реакции агглютинации и преципитации.

Сравнение культур по серологическим признакам

В нашем распоряжении были две сыворотки от кроликов, иммунизированных культурами Bac. polymyxa № 8523 и Erw. carotovora № 495 [2].

[2] Пользуемся случаем выразить благодарность ст. научному сотруднику Института питания Академии медицинских наук В. Г. Геймбер за предоставление нам этих сывороток.

Было произведено сравнение ряда культур Bac. polymyxa и Erw. carotovora по реакции агглютинации и преципитации. Результаты приведены в табл. 5.

Таблица 5

Результаты реакций агглютинации и преципитации

№ культуры	№ сыворотки			
	495	8523	495	8523
	титр агглютинации		реакция преципитации	
Bac. polymyxa 8523	0	4000	+—	++
7070	0	160	—	+—
13	0	3000	—	+—
2в	20	4000	+—	++
19	40	5000	—	++
21а	20	4000	—	++
1	160	40	—	+—
2	40	80	—	+—
47	160	80	—+	—+
Erw. carotovora 495	2000	0	+	+—
Г56	0	0	+	—(+)
75	0	0	+—	+—

Реакция агглютинации показала, что в пределах вида существуют различные по антигенным свойствам культуры. Так, часть культур Bac. polymyxa (2в, 21а) агглютинировалась сывороткой культуры 8523 в том же разведении, как и культура Bac. polymyxa 8523, другие же, агглютинировались при разведении сыворотки равном 1 : 160 — 1 : 40.

Наиболее интересным является тот факт, что эти же культуры агглютинировались также и сывороткой Erw. carotovora, правда, в очень небольшом разведении ее (1 : 160). Реакция преципитации также показывает наличие у этих культур общих антигенов.

Низкий титр сыворотки при реакции агглютинации не позволяет говорить о большом сродстве этих культур. Однако мы не в праве его игнорировать полностью и должны признать, что в антигенном аппарате этих двух видов бактерий есть общее.

Сравнение патогенности культур Bac. polymyxa и Erw. carotovora

Для характеристики патогенных свойств производилось заражение ломтей клубней картофеля, кочерыг капусты и корней моркови и зеленого растения культурами Bac. polymyxa № 8523 и Erw. carotovora № 495. Ввиду того что оптимальная температура их развития различна, заражение ломтей проводилось при 25° и 35°. Заражение зеленого растения (рассада капусты, стебли картофеля) производилось летом в оранжерее при различной температуре.

На основании проведенных опытов можно отметить, что характер гнили ломтей, вызванной этими культурами, очень близок. Обе культуры вызывали размягчение ломтей, причем большей частью при заражении Bac. polymyxa гниль была кремового цвета, при заражении Erw. carotovora такого же цвета, но с темным ободком на границе пораженной и здоровой ткани. Как видно из табл. 6, культура Bac. polymyxa была способна вызывать гниль ломтей при более высокой температуре, чем

Erw. carotovora, что находится в полном соответствии с оптимальной температурой их развития и подтверждается данными в работе Jackson и Henry [10].

Таблица 6

Результаты заражения ломтей клубней картофеля, корней моркови и кочерыг капусты культурами Bac. polymyxa и Erw. carotovora

(через сутки степень загнивания ломтей)

Название культуры	Температура					
	25°			35°		
	картофель	капуста	морковь	картофель	капуста	морковь
Erw. carotovora N 495 . .	+++	+++	+	+	+	+
Bac. polymyxa N 8523 . .	++	++	++	+++	+++	+++

Примечание. +, ++, +++ — степень загнивания ломтей.

При заражении зеленого растения картофеля большинство выделенных нами культур, так же как и культура Bac. polymyxa № 8523, было способно поражать зеленое растение, но только в более слабой степени, чем Erw. carotovora. Нам удавалось вызывать поражение только листа, да и то в жаркую погоду и при накладывании на него после заражения ватки, смоченной водой. Точка роста не поражалась совсем. Стебель поражали только некоторые культуры. Культура Erw. carotovora в тех же условиях вызывала интенсивную гниль листа капустной рассады, причем накладывание ватки, увлажненной водой, во много раз усиливало этот процесс. На побегах картофеля эти культуры вызывали только незначительное почернение.

Поражение растений от культуры Bac. polymyxa значительно усиливалось при увеличении количества культуры, взятой для заражения.

При нанесении спор культуры Bac. polymyxa на ломти картофеля загнивание последних происходило при более высокой температуре, чем при нанесении свежей односуточной культуры; в то время как свежая культура вызывала разложение картофеля при 25° и 35°, споры вызывали разложение только при 35°.

Прорастанием спор также можно объяснить факт уменьшения в наших опытах их количества на листе капустной рассады, находящейся во влажной камере при температуре 30—35°.

На основании этого материала можно сделать заключение, что условия, необходимые для проявления патогенных свойств Bac. polymyxa, более ограничены, чем для Erw. carotovora. В связи с этим, несмотря на широкое распространение культур Bac. polymyxa в природе из-за отсутствия соответствующих условий эта культура не всегда может играть роль возбудителя гнили. Тем не менее, учитывая наличие этих бактерий в почве, их исключительную вариабильность, всегда можно ожидать, что создадутся условия, когда эта культура может стать опасной. Такой случай, повидимому, мы имеем с семенниками капусты. Снижение сопротивляемости растений должно особенно благоприятствовать проявлению такого заболевания. Бактериоз льна, описанный Березовой и Савченковой [2], бактериоз кабачков, описанный Авакян [1], и ряд других заболеваний [6], вызванных спорообразующими бактериями, надо полагать, имеют такой же характер, как гниль семенников капусты.

Выводы

1. Культуры Bac. polymyxa по морфологическим и культуральным особенностям, за исключением спорообразования и оптимальной температуры, очень близки к культурам Erw. carotovora.

2. Процесс спорообразования у культур Bac. polymyxa характеризуется неустойчивостью, что указывает на необходимость обращать особое внимание на определение его у культур, выделенных в случаях мягкой гнили.

3. Культуры Bac. polymyxa вызывают такие же повреждения (гниль) клубней картофеля, кочерыг капусты и зеленого растения, как и Erw. carotovora, но при более высокой температуре, чем последняя.

Московское отделение Института сельскохозяйственной микробиологии

Получено 3.VI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян С. А. Бактериальное побурение кабачков. Микробиолог. сборник АН Армянской ССР, вып. V, стр. 91, 1950.
2. Березова Е. Ф. и Савченкова М. Бактериальные болезни льна, Микробиология, IV, 103, 1935.
3. Мантейфель А. Я. Спорообразование у бактерий. Микробиология, X, 419, 1941.
4. Рудаков К. И., Старыгина Л. П., Шишелова Н. А., Мягкая гниль овощных. Доклады ВАСХНИЛ, № 10, стр. 25, 1950.
5. Старыгина Л. П., Шишелова Н. А. Возбудители мягкой гнили семенников капусты. Микробиология, XVII, 160, 1948.
6. Ячевский А. А. Бактериозы растений, стр. 572, 1935.
7. Davidson R. S. Factors affecting the development of bacterial soft rot of Potato tuber initials. Phytopathology, **38**, 673, 1948.
8. Dowson W. J. Spore-forming bacteria in Potatoes. Nature, **152**, 331, London. 1943.
9. Elrod R. P. Serological studies of Erwineae II Soft-rot group with some biochemical consideration. The Botanical Gaz., **105**, 266, 1941.
10. Jackson A. W., Henry A. W. Occurrence of Bac. polymyxa Mig. in Alberta soil with special reference to its pathogenicity on potato tubers. Canad. J. Res. Sect. CXXIV, 39, 1946.
11. Ledingham G. A., Adams G. A., Stanier R. J. I. Fermentation of wheat mashes by Aerobacillus polymyxa. Canad. J. of Res., XXIII, 48, 1945.
12. Porter R., McCleskey C. S. and Levine M. The facultative sporulating bacteria producing gas from lactose. J. Bact., **33**, 163, 1937.
13. Volcani Z. and Dowson W. J. A plant disease caused by a spore-forming bacterium under natural conditions. Nature, No. 4103, 161, 1948.

МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ МЕМБРАННЫХ УЛЬТРАФИЛЬТРОВ ДЛЯ ПРЯМОГО СЧЕТА, СВОБОДНЫХ ОТ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК

Е. А. Рукина и *В. И. Бирюзова*

Количественные методы определения микроорганизмов, основанные на принципах учета вырастающих колоний из исследуемого образца на твердой питательной среде или на выяснении так называемого титра путем последовательных разведений данной пробы в жидких субстратах, как известно, не дают должных результатов. Ряд причин при использовании этих методов обуславливает получение цифр, резко преуменьшенных по сравнению с действительностью. В этом отношении метод непосредственного счета клеток микроорганизмов под микроскопом обладает несомненными преимуществами, хотя он также не свободен от недостатков. Но этот метод прямого счета в настоящее время незаменим в тех случаях, когда необходимо составить себе представление об общем числе микробных тел в исследуемых образцах, что и определило его широкое применение в различных областях микробиологии.

Успеху метода непосредственного счета микроорганизмов под микроскопом при исследовании природных жидкостей, особенно воды, в значительной мере способствовало применение тонких ультрафильтров из нитроклетчатки, изготовляемых в виде круглых мембран. Фильтруя исследуемые жидкие пробы через такие фильтры, задерживающие микробные клетки, легко затем, после окраски и просветления фильтров в канадском бальзаме или кедровом масле, сосчитать осевшие на их поверхности тела микроорганизмов.

Однако, как показали наши исследования, мембранные ультрафильтры, удобные для санитарно-бактериологического анализа воды, являются непригодными в их нынешнем виде при применении для целей прямого счета микроорганизмов: они сами содержат значительное число микробных тел. Просмотр не бывших еще в употреблении мембранных ультрафильтров под микроскопом показал (табл. 1), что на самой поверхности фильтра (фильтры 1, 2, 3, 4) в поле зрения микроскопа при увеличении $\times$ 1350 раз встречается до 18 бактериальных клеток. Между тем, обычно не ограничиваются подсчетом числа микроорганизмов на поверхности фильтра, а, вращая микрометрическим винтом микроскопа, этим самым определяют количество микробных тел также в глубже лежащих ярусах фильтра.

Представление о числе клеток микроорганизмов, находящихся во всей толще ныне изготовляемых фильтров, дает фильтр 5 на табл. 1. На этом фильтре во всех плоскостях его просчитывались микробные клетки в каждом поле зрения микроскопа. Легко понять, какую большую ошибку в своих расчетах делает исследователь при использовании мембранных ультрафильтров для прямого счета микроорганизмов в воде, если сами по себе эти фильтры до фильтрации проб воды содержат до 41 микробной клетки, в поле зрения микроскопа. Сделав условные расчеты на 1 мл воды, т. е. помножив сумму клеток в 100 полях зрения на соответствующий коэффициент, как обычно поступают исследователи, можно сказать, что данный, не бывший еще в употреблении фильтр, который отнюдь не является исключением, содержит микроорганизмы в концентрации, равной 15 000 клеток в 1 мл, при условии фильтрации 50 мл воды через мембранный фильтр диаметром в 1 см

Таблица 1

Количественное содержание микробных клеток в мембранных ультрафильтрах, изготовляемых для санитарно-бактериологического анализа воды

Фильтр 1

6	3	4	4	8	3	3	3	4	2
2	3	1	0	2	7	4	5	2	5
6	3	3	7	3	3	4	3	2	2
2	2	2	5	3	2	3	0	4	3
1	1	3	5	1	4	4	2	0	2
3	0	0	1	3	4	5	2	0	1
2	2	4	4	2	0	3	3	6	3
4	3	1	0	1	4	2	0	0	0
4	4	3	2	2	0	2	7	3	5
3	0	0	1	7	2	1	0	0	2

Фильтр 2

18	5	4	8	0	18	9	4	4	0
2	2	3	3	3	2	2	2	5	3
5	10	5	5	9	2	3	2	9	5
10	9	4	1	2	2	3	2	4	4
1	2	2	5	2	2	1	1	3	2
2	1	1	6	5	3	5	3	1	3
3	6	4	4	5	2	3	2	4	2
5	2	2	6	3	1	4	4	3	3
2	9	3	2	2	1	2	2	1	0
1	0	0	2	2	1	3	2	2	5

Фильтр 3

2	1	3	1	2	2	1	2	5	3
4	4	5	2	2	5	6	2	2	4
1	1	2	3	6	5	3	1	2	2
6	3	8	1	4	3	2	2	1	1
3	2	5	2	4	3	2	3	3	11
3	2	1	3	5	3	2	2	2	2
2	2	2	4	2	2	4	3	1	4
2	2	3	2	1	6	4	2	3	3
4	2	5	6	2	2	4	4	0	2
3	3	1	4	3	3	3	3	1	1

Фильтр 4

1	1	2	4	10	7	3	1	1	0
0	1	1	1	0	4	3	2	2	1
0	0	3	2	2	4	1	1	1	1
3	1	2	1	2	5	1	5	3	0
3	2	1	0	1	4	3	1	1	3
0	1	0	0	2	0	0	1	0	1
1	1	1	1	2	2	2	1	1	1
2	2	0	1	2	3	0	1	3	1
0	3	4	3	1	0	2	2	2	3
2	2	1	2	3	4	0	4	1	0

Фильтр 5

17	40	38	41	17	19	20	19	28	27
22	23	19	37	23	27	20	21	39	20
17	13	19	19	19	27	21	17	18	19
21	15	6	18	13	19	24	19	21	24
8	19	18	20	11	37	29	34	18	26
19	23	19	12	9	12	11	32	30	31
23	27	20	21	13	9	20	21	17	13
8	12	14	16	12	22	27	12	20	20
19	8	7	25	26	6	25	33	27	19
32	20	17	15	14	20	10	21	17	17

Примечание. Фильтры 1, 2, 3, 4 обозначают количество микробных тел на поверхности фильтра в каждом поле зрения микроскопа; фильтр 5—количество микробных тел во всей толще фильтра в каждом поле зрения микроскопа.

Морфологический состав микроорганизмов, встречающихся в мембранном фильтре, не бывшем еще в употреблении, очень разнообразен. Здесь встречаются представители различных систематических групп микроорганизмов. В табл. 2 приведены данные раздельных подсчетов кокков, палочковидных форм и спор в 100 полях зрения на 4 фильтрах

Таблица 2

Количественные соотношения основных морфологических групп микроорганизмов на поверхности мембранных ультрафильтров, изготавливаемых для санитарно-бактериологического анализа воды; (число клеток в 100 полях зрения микроскопа)

Морфологические группы микроорганизмов	№ фильтра			
	1	2	3	4
Споры	78	61	60	32
Палочки	24	23	27	27
Кокки	165	269	199	115
Всего	267	353	286	174

И наконец, для полноты характеристики микроскопических картин, наблюдающихся на мембранных ультрафильтрах, приводятся рисунки частиц (см. рисунок), обнаруженных на их поверхности после окраски эритрозином. Фильтраты окрашивались путем накладывания тыльной стороной на фильтровальную бумагу, смоченную 1%-ным раствором эритрозина, предварительно профильтрованным через мембранный фильтр.

Установив столь высокую загрязненность микробными телами выпускаемых мембранных ультрафильтров, мы решили выяснить пути загрязнения их с тем, чтобы найти способы получения фильтров, свободных от клеток микроорганизмов.

Ниже следует описание проведенных исследований, которые позволили создать тип мембранного ультрафильтра, пригодного для применения при прямом счете микроорганизмов.

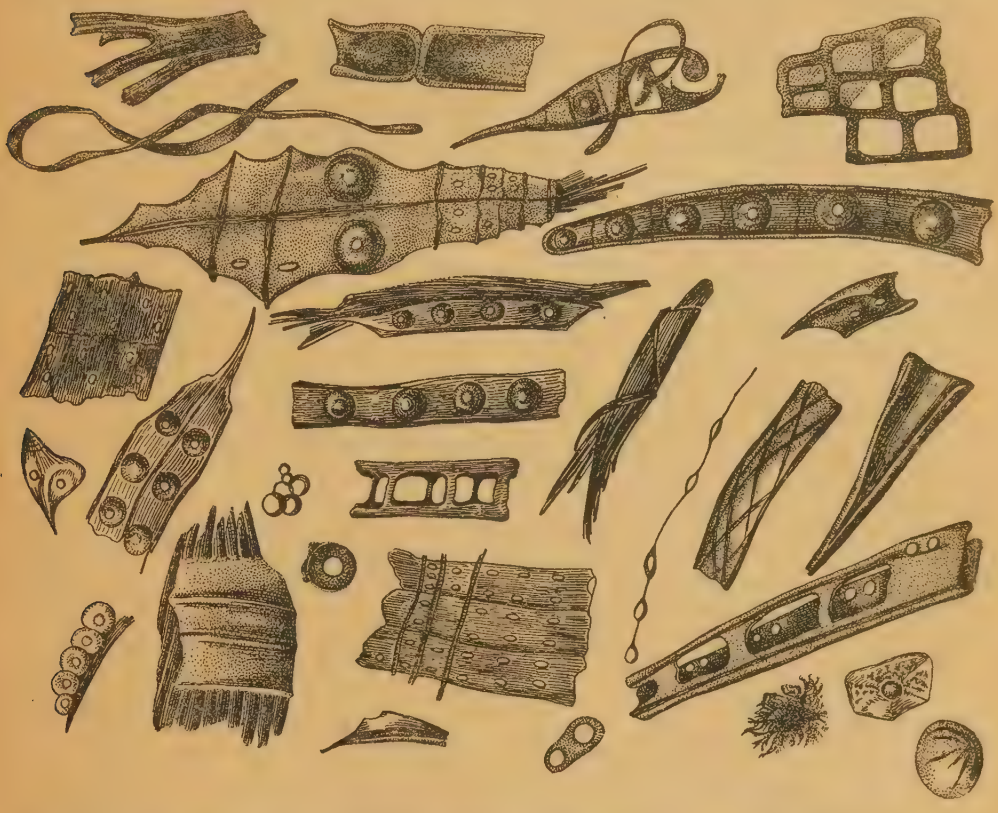
Как известно, исходным материалом для изготовления мембранных ультрафильтров служит коллоксилин — нитроклетчатка, имеющая вид ваты. Это волокнистое вещество растворяется в смеси органических растворителей. Полученный коллоидный раствор разливается по поверхности стеклянных пластин, на которых и образуется, вследствие испарения растворителей, пористая пленка. Эта пленка, имеющая значительные размеры, вначале промывается в дестиллированной воде, а вслед за этим помещается между двумя большими листами картона для просушки. Путем прижимания под давлением листов картона к пленке, вследствие гигроскопичности картона происходит отдача воды пленкой. Из высушенной таким образом пленки вырезаются кружки,— и мембранные фильтры готовы.

Проведенное микробиологическое обследование дало возможность установить, что загрязнение фильтров микробными клетками происходит на различных этапах их изготовления.

Основным источником загрязнения микроорганизмами является коллоксилин. Под микроскопом легко видеть, какое огромное число различных микробных форм содержит эта вата. Растворение коллоксилина в смеси растворителей приводит к тому, что вся масса микробных тел оказывается взвешенной в образующемся коллоидном растворе, фиксируясь действием этих растворителей. Если нанести каплю коллоидного

раствора коллоксилина на предметное стекло и герметично прикрыть его покровным, чтобы избежать испарения растворителей, то под микроскопом видно почти все то богатство микробных тел, какое наблюдается в готовых фильтрах.

В процессе промывки пленки также происходит попадание микроорганизмов из воды и воздуха, но уже только на поверхность пленки.



Частицы различной формы, окрашивающиеся эритрозином, которые обнаружены под микроскопом на поверхности мембранных ультрафильтров, изготовляемых для санитарно-бактериологического анализа воды.

Сильно загрязняются поверхности пленки микроорганизмами и разнообразными частицами в процессе сушки пленки, при нарезании ее и сортировке готовых мембранных фильтров.

Таким образом, существующие методы приготовления мембранных ультрафильтров для санитарно-бактериологического анализа воды не являются достаточными для получения ультрафильтров, пригодных к использованию при прямом счете микроорганизмов. Требуется такое изменение процесса изготовления мембранных фильтров, которое устранило бы столь высокую обсемененность их микробными телами и этим самым определило бы полноценность мембранных ультрафильтров и в условиях их применения для целей бактериоскопического анализа.

Как указывалось выше, значительное ксличество микроорганизмов содержится в исходном материале, применяющемся для изготовления мембранных ультрафильтров — коллоксилине. Сравнивая число микробных тел в поле зрения микроскопа на фильтрах 1, 2, 3, 4 (табл. 1), которые обследовались в отношении обсемененности клетками микроорганизмов только их поверхности, и в фильтре 5, в котором сосчиты-

вались микроорганизмы, находившиеся во всей его толще, легко заключить, что коллоксилин поставляет основную массу микроорганизмов в мембранных ультрафильтрах.

Естественно, в первую очередь возникла задача освобождения коллоксилина или, точнее, коллоидного раствора его от микробных тел. Наилучшим решением этой задачи могла служить ультрафильтрация для задержки взвешенных в коллоидном растворе коллоксилина микробных клеток на соответствующем фильтре. По этому пути мы и пошли, применив в качестве ультрафильтров асбестовые фильтры, употребляющиеся при холодной стерилизации различных жидких материалов.

Ультрафильтрация под вакуумом непригодна для поставленной цели, так как коллоидный раствор не фильтруется, вследствие его большой вязкости. Это побудило использовать метод ультрафильтрации под большим давлением (5—6 атмосфер) для получения коллоидного раствора коллоксилина в свободном от микроорганизмов виде без каких-либо изменений в его рецептуре.

Ультрафильтрация раствора коллоксилина протекает медленно, но не сказывается на качестве этого раствора.

Освобожденный таким образом от микробных тел коллоидный раствор коллоксилина разливается на стеклянные пластины, вымытые ацетоном. Полученная пленка стерильно снимается с пластин и помещается для промывки в стерильные стеклянные сосуды, наполненные дестиллированной водой, предварительно пропущенной через мембранные фильтры, задерживающие клетки микроорганизмов, и затем простерилизованной в автоклаве.

Из промытой пленки специальным сверлом вырезываются мембраны нужной величины. Вырезанные мембранные ультрафильтры хранятся в стерильной ультрафильтрованной воде, к которой добавляется ультрафильтрованный формалин в количестве 1%.

Просматривая под микроскопом изготовленные таким образом фильтры во всей их толще, удается обнаружить лишь ничтожно малое число микробных клеток в 100 полях зрения. Этими фильтрами мы с успехом пользуемся в своих исследованиях по морской микробиологии.

В заключение следует еще описать способ, при помощи которого мы освобождаем канадский бальзам или кедровое масло от заключенных в них микробных тел. Эти вещества употребляются для просветления фильтров при пользовании методом прямого счета. Хотя канадский бальзам или кедровое масло не извлекают эритрозин из препарата и, следовательно, находящиеся в них микробные клетки не окрашиваются и могут быть отдифференцированы от окрашенных микроорганизмов на фильтре, но споры, встречающиеся в канадском бальзаме и кедровом масле, скажутся на результатах счета клеток на фильтрах. Эти неокрашенные споры почти невозможно отделить при счете от спор, осевших на поверхности фильтра при фильтрации исследуемой пробы воды, так как споры не прокрашиваются по общепринятой методике окраски мембранных ультрафильтров.

Для освобождения канадского бальзама и кедрового масла от спор и других клеток микроорганизмов нами была применена следующая методика. К канадскому бальзаму или кедровому маслу прибавляется такое количество ксилола, какое необходимо для получения очень жидкой консистенции этих растворов. Затем растворы фильтруются через мембранные ультрафильтры и из ультрафильтратов, путем испарения в соответствующей посуде удаляется избыток ксилола. Эта методика проста и позволяет быстро получить канадский бальзам и кедровое масло в свободном от микроорганизмов виде.

Пользуемся случаем выразить свою глубокую благодарность проф. А. Е. Крисс и И. Б. Несвижскому за советы и оказанное содействие в проведенной работе.

Выводы

1. Мембранные ультрафильтры, используемые для санитарно-бактериологического анализа воды, содержат значительные количества клеток микроорганизмов на поверхности и в теле фильтра. Это приводит к большим ошибкам в расчетах при пользовании данными фильтрами для целей прямого счета микроорганизмов в воде и других природных жидкостях.

2. Основным источником загрязнения является исходный продукт для изготовления мембранных ультрафильтров — коллоксилин. Дополнительное загрязнение клетками микроорганизмов происходит при промывке пленок и особенно при сушке, резке и сортировке мембранных ультрафильтров.

3. Для изготовления мембранных ультрафильтров, свободных от микробных тел и, следовательно, пригодных для целей прямого счета микроорганизмов под микроскопом,— описан метод, сущность которого заключается в применении ультрафильтрации под давлением для удаления клеток микроорганизмов из коллоидного раствора коллоксилина и в устранении тех операций, которые приводят к «отпечатыванию» микробных клеток на поверхности фильтров.

4. Рекомендуется также методика освобождения канадского бальзама и кедрового масла, применяющихся для просветления мембранных ультрафильтров при прямом счете, от заключенных в этих веществах клеток микроорганизмов. Для этой цели канадский бальзам или кедровое масло разводятся ксилолом до очень жидкой консистенции, фильтруются через мембранный ультрафильтр и затем из полученного ультрафильтрата путем испарения удаляется избыток ксилола.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 15.XI.1950 г.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ ИСАЧЕНКО — ДАНИЧА

Л. П. Крутикова

В связи с введением бактериологического метода в систему мероприятий по борьбе с мышевидными грызунами (крысами, мышами и др.) и организацией массового производства культур мыше-крысоубивающих бактерий на местах их применения возник вопрос о питательных средах, наиболее пригодных для производства этих культур.

Согласно инструкции, разработанной Всесоюзным институтом сельскохозяйственной микробиологии, для целей дератизации до Отечественной войны была рекомендована среда из пивных дрожжей.

Но в практике борьбы с мышевидными грызунами, особенно в период Отечественной войны, применялись и другие питательные среды, приготовляемые из местных продуктов: молоко [1] как цельное, так и обрат, пахтанье, сыворотки, горох, ржаные отруби, хлебопекарные дрожжи и др.

Сравнительная оценка их с точки зрения пригодности для массового производства не производилась. Данная работа и была проведена именно с этой целью.

Обращаясь к истории вопроса, следует отметить работу Дмитриевской и Чеботаревич [2], изучавших ряд вариантов яичных сред (из белка или желтка) мясо-пептонные бульоны, молочные среды и бобовые с пептоном и без него, а также пивные дрожжи, в качестве сырья для приготовления сред для массового культивирования различных групп мыше-крысоубивающих бактерий. Для целей дератизации авторы рекомендуют среду из прессованных пивных дрожжей и бобовую среду с добавлением 0,5% пептона и воздерживаются от рекомендации молока, как продукта с непостоянным химическим составом.

Шишелова [3] производила сравнительную оценку пригодности мясо-пептонного бульона, пивных и пекарских дрожжей для выращивания бактерий Исаченко — Данича. Наблюдая за титром этого микроорганизма и pH среды в различные сроки на протяжении 45 суток, автор приходит к выводу, что на некоторых образцах пекарских дрожжей (благодаря содержанию в них углеводов, при сбраживании которых происходит подкисление среды) pH среды снижается до 4,5, а количество бактерий Исаченко — Данича падает и к 45-му дню клетки полностью погибают. При отсутствии подкисления среды пекарские дрожжи не уступают пивным дрожжам и мясо-пептонному бульону.

Нами подвергались сравнительной оценке пять питательных сред, приготовленных из пивных и хлебопекарных дрожжей, молока, гороха и ржаных отрубей. Эти среды готовились по прописи предложивших их авторов.

Культуры бактерий Исаченко — Данича выращивались на этих средах, как обычно, в течение двух суток при 37°, после чего они сохранялись в условиях комнатной температуры при 15—18° в продолжение 45 суток, т. е. установленного срока их производственной годности. В четыре срока, через 2, 15, 30 и 45 суток, в них проверялось количество клеток, pH среды, биохимические свойства и вирулентность на серых крысах. Кроме того, в ранние и поздние сроки хранения проверялась эффективность этих культур при дератизации различных объектов в городе и сельской местности.

Количество клеток учитывалось по числу колоний, выраставших на щелочном МПА. Биохимические свойства проверялись высевом на среды с сахарами («пестрый ряд»). Вирулентность устанавливалась скармливанием серым крысам 10 мл культуры per os в виде приманки на ржаной муке. Трупы павших животных подвергались патологоанатомическому и микробиологическому исследованию с высевом на мясо-пептонный и Эндо-агары. Выросшие колонии бактерий Исаченко — Данича проверялись на реакцию агглютинации.

Полученные данные приведены в табл. 1, 2, и 3.

Таблица 1

Титр бактерий Исаченко—Данича в культурах на различных средах в зависимости от срока хранения

Питательная среда	Сроки хранения культуры в сутках			
	2	15	30	45
	Количество бактерий в млн. в 1 мл			
Пивные дрожжи	560	300	275	275
Пекарские дрожжи	580	375	290	250
Молочная	550	470	400	356
Гороховая	330	325	285	200
Среда из ржаных отрубей	312	320	280	200

Таблица 2

Испытание вирулентности культур на серых крысах

Питательная среда	Двусуточная культура		15-суточная культура		30-суточная культура		45-суточная культура	
	смертность в %	средняя продолжит. выживания в днях	смертность в %	средняя продолжит. выживания в днях	смертность в %	средняя продолжит. выживания в днях	смертность в %	средняя продолжит. выживания в днях
Пивные дрожжи	75—85	7—8	70—85	8	65—70	9	50—60	9—10
Пекарские дрожжи	70—85	7—8	70—80	8	60—70	9	50—60	9—10
Молочная	80	8	80	8,5	60—70	9	50—60	9,5
Гороховая	80	7,5	80	8	60	9—10	50—60	10—12
Среда из ржаных отрубей	80	10	70—80	10—12	50	10—16	50—0	10—30

Таблица 3

Изменение pH в культурах бактерий Исаченко — Данича на различных средах в зависимости от сроков хранения

Питательная среда	Сроки хранения культур в сутках			
	3	15	30	45
Пивные дрожжи	7,0	7,0	7,2	7,4
Пекарские дрожжи	6,8	7,0	7,2	7,4
Молочная	6,4	6,5	6,6	6,8—7,0
Гороховая	7,0	7,3	7,4	7,4
Среда из ржаных отрубей	6,3	6,5	6,6	6,8

Количество клеток бактерий Исаченко — Данича

Во всех вариантах опыта количество клеток более высокое в двухсуточных культурах и падает в 45—50-суточных. Наиболее высоким числом клеток отличались культуры на молоке. В ряде опытов в 2—15-суточных культурах количество клеток доходило до 700 млн. в 1 мл культуры, а в среднем в течение всего срока опыта колебалось от 550 до 356 млн. На втором месте по количеству клеток стоят обе дрожжевые среды, мало различаясь между собой, и на третьем месте — среда из гороха и среда из ржаных отрубей. Последняя часто давала непостоянное количество клеток.

pH среды

pH дрожжевой и гороховой сред изменялся в пределах от 7 до 7,4 к концу опыта, а молочной среды и среды из ржаных отрубей — в пределах 6,3—6,4 до 6,8—7 к концу опыта.

При изготовлении среды из пекарских дрожжей следует пользоваться первыми генерациями дрожжей, т. е. культурами, выпускаемыми заводской лабораторией для массового размножения в производственном цехе. Изменение видового состава дрожжей и засорение их посторонней микрофлорой в процессе хранения влияют на повышение кислотности этой среды. Использование первых генераций свежих прессованных пекарских дрожжей дает в практике борьбы с грызунами результаты, аналогичные результатам у пивных дрожжей (табл. 3).

Исходный pH натурального молока около 6,8. Искусственное подщелачивание этой среды не применялось. Подкисление среды в молочных культурах можно объяснить частичным разложением лактозы, а дальнейшее подщелачивание идет за счет продуктов распада казеина.

Низкий pH среды, приготовленной из ржаных отрубей, объясняется повышением кислотности, образующейся за счет разложения крахмала. Для избежания этого рекомендуется тщательная отмывка ржаных отрубей от крахмала. Рецепт этой среды нуждается в доработке. Возможно, что отруби следует подвергать автолизу, как это применяется для гороховой среды.

Вирулентность культур

В отношении сохранения вирулентности (в течение 45 суток) культуры на дрожжевых средах и молоке давали одинаковые результаты. При скармливании двусуточных культур смертность крыс в среднем достигала 80%, со средней продолжительностью выживания 7—8 суток. Культуры 45-суточные давали смертность на 50—60% с удлинением срока выживания до 10 суток. Культуры на гороховой среде давали аналогичные результаты, но при скармливании 45-суточных культур средний срок гибели крыс иногда удлинялся до 10—12 суток.

Молодые культуры на ржаных отрубях в лабораторных условиях давали до 80% смертности со средним выживанием до 10—12 суток, но не постоянно. Смертность от культур длительных сроков хранения — 45—50 суток — не всегда наступала в установленный срок — 16 суток, крысы погибали и через 20—30 суток. При вскрытии трупов наблюдались явления энтероколита, а из органов выделялись бактерии Исаченко — Данича. Видимо, ослабленные культуры вызывали более слабую форму заболевания, последнее носило затяжной характер и переходило в хроническую форму. При этом некоторые крысы не погибали.

По данным Бычковской, культуры на этой среде следует применять против мышей и полевок.

Проверка эффективности культур для дератизации

Культуры, выращенные на указанных пяти вариантах питательных сред ранних и длительных сроков хранения, применялись для борьбы с крысами и мышами на различных объектах в сельском хозяйстве — парниках, хранилищах, домах, а также в городе — в учреждениях, жилых домах и театре. Учет смертности производился на основании степени поедаемости приманок при двукратной раскладке ее, а также путем сбора трупов и личного опроса местных работников. Точность этого учета следует считать относительной.

В парниках приманки вносились в отверстие нор, после чего последние засыпались землей. В течение предусмотренного в инструкции срока 18 суток не обнаружено открытия ни старых, ни новых нор. Присутствие мышей не обнаружено, а рассада в парнике оставалась неповрежденной. В этом случае эффективность считалась 100%.

Данные опытов сведены в табл. 4.

Таблица 4

Эффективность применения культур бактерий Исаченко—Данича для борьбы с грызунами

Объект обработки	Среда, на которой применялась культура	Возраст культуры в сутках	pH культуры	Колич. бактерий Исаченко—Данича в 1 мл культуры	Эффективность от применения культуры, смертность в %	Грызуны, против которых применялась культура
Овощехранилище	Пивные дрожжи	2	6,8	220	100	Крысы
Зернохранилище	То же	2	6,8	220	100	„
Складское помещение	„ „	2	7,0	300	90	„
Учреждение	„ „	45	7,1	100	60	„
Парники (колхоз „Малиновка“)	Пекарские дрожжи	2	6,8	415	100	„
Жилое помещение	То же	1	6,6	230	50	„
Кино	„ „	30	6,9	125	40	„
Парники подсобного хозяйства ВМТ № 3	Молочная	1	6,8	340	100	Мыши
Жилое помещение	„	2	6,8	365	100	Крысы
„ „	„	45	6,6	200	50	„
„ „	„	52	6,8	240	40	„
Парники (колхоз „Яблоновка“)	Гороховая	2	7,0	370	100	„
Учреждение	„	30	7,3	118	60	„
„	Ржаные отруби	2	6,9	270	0	
Учреждение и склады	То же	2	6,8	200	0	

Как правило, культуры одно-, двусуточного возраста давали 100%-ную эффективность. Один опыт дал 50% эффективности. Эта односуточная культура на пекарских дрожжах обладала низким pH и содержала всего 130 млн. клеток в 1 мл. Здесь применялись дрожжи неизвестной генерации и, повидимому, не вполне свежие.

Культуры более длительных сроков хранения — 30—45-суточные — оказались менее эффективными. Смертность крыс колебалась в пределах 40—60%.

Эти опыты подтвердили данные, полученные в лабораторных условиях.

Выводы

1. Из проверенных нами пяти вариантов питательных сред из пивных и хлебопекарных дрожжей, молока, гороха и ржаных отрубей для производства культур бактерий Исаченко — Данича можно рекомендовать первые четыре среды. Прессованные пекарские дрожжи оказались столь же пригодными, как и пивные, при условии пользования первыми генерациями, которые пускаются заводскими лабораториями в массовое размножение.

Среды из молока высоко эффективны, удобны для изготовления культур в сельских местностях или районах с развитым животноводством.

Гороховая среда без добавления пептона оказалась вполне эффективной. Среда из ржаных отрубей требует некоторой доработки рецепта и дополнительной проверки.

2. Срок хранения культур влияет на титр бактерий Исаченко — Данича и на эффективность при использовании для борьбы с мышевидными грызунами. В культурах со сроком хранения 45—50 суток количество клеток бактерий Исаченко — Данича снижалось на 30—50%. Смертность крыс при этом составляла всего 40%.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Ленинград

Получено 22.VI.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданов П. А. Молочная питательная среда для изготовления массовых крысоубивающих культур бацилл Данича. Защита растений от вредителей, VII, вып. 4—6, 405, 1930.
2. Дмитриевская Н. А. и Чеботаревич М. Ф. К вопросу о применении различных питательных сред в целях массового культивирования групп микробов так называемого крысиного и мышиного тифа. Архив биологич. наук, XXIX, III, 385, 1929.
3. Шишелова Н. А. Научный отчет Всесоюзного ин-та с.-х. микробиологии за 1942 г. Сельхозгиз, стр. 42, 1945.

О НЕКОТОРЫХ ПРИНЦИПАХ СЕЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА[1]

Е. И. Квасников

Журнал «Микробиология» своевременно открыл дискуссию по актуальному вопросу о методах и принципах селекции микроорганизмов для производства [7].

В настоящей статье я хочу остановиться лишь на некоторых общих положениях, которые являлись исходными в течение наших многолетних работ по селекции производственных микроорганизмов.

Нам представляется, что исходным и наиболее важным в работах по селекции микроорганизмов является возможно более глубокое понимание взаимоотношений их со средой обитания, понимание природы их хозяйственно ценных свойств.

Свойства микроорганизмов в течение долгой эволюции формировались в естественных условиях существования. Производство — это новая среда обитания для микроорганизмов, в процессе приспособления к которой они непрерывно изменяются. В зависимости от характера влияния производственных условий хозяйственно ценные свойства микробов могут меняться в различных направлениях. Вот почему при селекции микроорганизмов так важно знание технологического процесса производства, для нужд которого проводится селекционная работа, и понимание характера влияния его на микроорганизмы.

Мы полагаем, что именно это должно определять пути исследования, которые в каждом конкретном случае должны учитывать специфику производственных условий.

Длительное культивирование микробов в некоторых производствах улучшает их хозяйственно ценные свойства. Это наблюдается преимущественно там, где прямое приспособление микроорганизма к производственной среде обитания нам особенно полезно, например приспособление к глубокому выбраживанию более сложных продуктов гидролитического разложения полиоз. Так, длительное развитие на продуктах амилолитического распада крахмала вызвало у некоторых дрожжей способность сбраживать некоторые простейшие декстрины. И действительно, как указывалось рядом исследователей, в природе мы не встречаем дрожжей Saccharomyces ellipsoideus, так глубоко выбраживающих сусло из осахаренного крахмала, как производственные штаммы, которые преимущественно на основании этого признака выделяются в новый вид Sacch. cerevisiae [5]. Наше изучение большой коллекции дрожжей, собранной в различных природных местонахождениях Средней Азии, полностью подтверждает это положение.

Поэтому многократное проведение культурных рас дрожжей через спиртовое производство, перерабатывающее хлебно-картофельное сырье, может улучшить их качество.

Аналогичные результаты могут быть получены и в работе по приспособлению дрожжей к неблагоприятным для них компонентам среды. Так, Якубовским [8] была выведена раса «Я», дающая прекрасные результаты при сбраживании заторов из мелассы.

---

[1] Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по вопросам селекции микроорганизмов.

Проводя многократно дрожжи через производственный цикл шампанского производства, удавалось улучшить их качества (Рябченко [8]; Квасников и Хроликова [4] и др.).

Мы многократно проверяли этот способ и в первичном виноделии. Но здесь при работах с суслами, обсемененными эллипсоидальными дрожжами, никогда нет гарантии, что производится улучшение именно апробированной расы, а не выделение нового штамма с неизвестными свойствами (изучение которого требует длительных и кропотливых исследований). Ориентировка на форму и структуру колоний дрожжей себя не оправдывает, так как эти признаки могут изменяться. К тому же окончательная оценка вина дается через несколько месяцев после его изготовления. Поэтому этот способ (ввиду также сезонности производства) вряд ли может быть широко рекомендован для винодельческой промышленности; он может быть лишь способом работы лабораторий.

Таким образом, улучшение рас путем многократного проведения через производство дает положительные результаты в тех случаях, где последнее направленно улучшает определенные свойства микроорганизмов, в то время как другие, также хозяйственно ценные свойства их, с этим положительно коррелируют.

При техническом осуществлении данного принципа селекции лишь в производствах, перерабатывающих стерильные субстраты, возможен непосредственный возврат изолированных культур в производственный цикл, однако это связано с риском, в силу чего выделенные культуры нуждаются в дополнительных исследованиях. При переработке же нестерильных или условно-стерильных субстратов каждый из изолированных штаммов должен всесторонне исследоваться, как при их обычной селекции. Отказаться от этих проверок нельзя, так как среди изолированных штаммов могут оказаться и такие, которые обладают низкими качествами.

Все это заставляет и для данных производств применять более эффективные методы селекции.

Производственные субстраты далеко не всех производств влияют на микроорганизмы в желательную для нас сторону и отбирают формы, качество которых особенно интересно с точки зрения технологического процесса. В искусственных условиях технологического процесса некоторых производств могут оказаться интересными именно формы, в определенных отношениях менее активные. Понятия физиологической активности, большей приспособленности к среде обитания и хозяйственной ценности форм не всегда совпадают. Иногда для нас большой интерес представляют штаммы, обладающие ослабленными ферментативными свойствами, физиологически «вялые» (производство некоторых слабоалкогольных напитков).

В некоторых производствах хозяйственно ценные признаки микробов ослабляются при длительном технологическом процессе. Это наблюдается при использовании микроорганизмов для производства некоторых органических растворителей, кислот и т. д. Здесь частое размножение для производства специально сохраняемых в особых лабораторных условиях культур является обязательным требованием.

В некоторых производствах нас интересуют свойства микробов, не носящие ярко приспособительного характера (побочные продукты брожения, в частности ароматообразование, и т. д.). Трудно предположить, чтобы производственные условия обязательно изменяли их в желательном направлении.

Поэтому селекция производственных штаммов только из производства может во многих случаях повлечь к отрицательным результатам.

Наконец, и при селекции микробов из производственных субстратов выделение их из продуктов лучшего качества не следует рассматривать как единственный путь. Иногда, наоборот, испорченная, «больная» продукция может дать нам нужный материал. В данном случае интерес

могут представить формы, выжившие в конкуренции с другими видами. Больше того, при этом могут образоваться формы с необходимыми для нас свойствами.

Так, нам удавалось из испорченных силосов выделять штаммы молочнокислых бактерий, обладающих высокой активностью, дающие при производственной проверке хорошие результаты.

Таким образом считать, что с усовершенствованием технологического процесса расы микроорганизмов будут обязательно изменяться в желательную для нас сторону, конечно, нельзя.

Микробиология в настоящее время располагает многими методами, построенными на принципах селекции, разработанных Мичуриным и Лысенко.

Природа является неисчерпаемым источником, из которого человек в течение своей истории брал, берет и будет брать для окультуривания живые организмы. Значимость изучения живых богатств природы во всех отраслях естествознания все более возрастает именно теперь, когда мичуринская биология открыла широчайшие возможности направленной переделки природы. В этом отношении мир микробов сулит нам особенно много. Нередко, к тому же, свежевыделенные штаммы приобретая в новых условиях обитания высокую пластичность, представляют благодарный материал для дальнейшего их улучшения.

Отметим, например, что большой материал, накопленный нами по сравнительному изучению винодельческих штаммов дрожжей, выделенных в Средней Азии из природных местообитаний (биоценозов виноградника и сада, а именно: из почвы, ягод, надземных частей растений, нектарников цветов и т. д.), и штаммов, изолированных из лучших вин, дал любопытные результаты. Оказалось, что ряд производственно ценных признаков, особенно способность образовывать ничтожные количества летучих кислот, более широко распространен среди штаммов, выделенных непосредственно из природы, чем из вин. Значительное количество первых давало прекрасную осветляемость сусла и плотной очень трудно взмучивающийся осадок.

Нами (Квасников и Хроликова [3]) именно из ягод винограда была выделена раса Ркацители-6 (РЦ-6), дающая прекрасные показатели и широко внедренная в промышленность Средней Азии. Она выявила себя и как одна из лучших шампанских рас.

Не только дрожжи, но и ряд других групп микроорганизмов, выделенных из природных месторождений определенных экологических районов, обладают высокой энергией биохимических процессов. В этом отношении интерес представляют штаммы, выделенные в резко континентальном субтропическом климате Средней Азии.

Так, при селекции молочнокислых бактерий для силосования кормов Узбекистана, в совместных работах с Сумневич [2] удавалось из эпифитной микрофлоры полупустынных растений выделять штаммы, обладающие непосредственно после их выделения совершенно исключительной способностью кислотообразования (до 300—500° Т).

Некоторые хозяйственно ценные свойства микробов могут формироваться в условиях дикой природы. В данном случае поиски нужных микробов в природе — это не случайный, а вполне закономерный, обоснованный путь.

Кстати отметим, что увлечение селекцией местных рас микроорганизмов для нужд сельскохозяйственной технологии только отдельных районов, возведенное в догму, как нам представляется, вряд ли является обоснованным. Тщательно учитывая специфику местных условий, в каждом конкретном случае надо подходить индивидуально. Не следует игнорировать возможности интродукции и акклиматизации рас, выведенных в других районах. Иногда в новых условиях они могут выявить ряд ценных свойств.

Так, 53-й штамм азотобактера, выделенный из почв Средней Азии, дает хорошие показатели в совершенно иных географических районах и нередко превосходит по активности местные штаммы. Нами из почв Средней Азии совместно с Петрушенко [1] выделен ряд штаммов азотобактера, значительно превосходящих по азотфиксирующим способностям 53-й штамм. Они переданы для испытания также и в иные эколого-географические районы.

Наша раса Ркацители-6 дала хорошие производственные показатели в некоторых местностях западных районов СССР. Внедрение ее при бутылочной шампанизации на Московском заводе дало крупную экономию. Эта раса обладает резко выраженной способностью давать плотные, невзмучивающиеся, хорошо передвигающиеся по стеклу осадки.

Аналогичных примеров можно привести много. Поэтому, уделяя большое внимание селекции местных штаммов, следует изучать и штаммы, хозяйственно ценные свойства которых сформировались в иных районах.

Советскими микробиологами достигнуты крупные успехи в области селекции микроорганизмов. На заводах различных отраслей промышленности работают выведенные ими расы.

В настоящее время мы располагаем методами усиления ферментативного аппарата микроорганизмов, приспособления их к сбраживанию многих трудно сбраживаемых субстратов; мы научились получать значительные сдвиги в температурных границах жизнедеятельности микробов в зависимости от нужд производства, успешно приучаем микроорганизмы к целому ряду антисептиков.

Все это достигнуто преимущественно в условиях лабораторого эксперимента, сочетаемого с факторами производственного воздействия.

Наибольшей пластичностью обладают живые организмы в период энергичной ассимиляции в стадиях преобладания синтетических процессов. В настоящее время лабораторно разработан ряд приемов (проточные культуры и др.), при которых эти процессы проходят плавно и быстро, значительно превосходя таковые на производстве (Саенко [9]).

Вдумчиво применяя методы мичуринской селекции, подбирая факторы, расшатывающие наследственность микробной клетки, и сочетая их с последующим направленным воспитанием, под влиянием лабораторных и производственных воздействий удается получить и закрепить ряд производственно важных свойств микробов.

На очереди стоят работы по глубокому изменению направления обмена веществ микробной клетки, как это совершенно справедливо подчеркнул Имшенецкий на Всесоюзной конференции по планированию микробиологических исследований.

Микроорганизмы одними из первых живых существ возникли на поверхности охлажденной планеты. Они прошли долгий путь эволюции. Микроорганизмы, в силу особенностей своего строения и обмена веществ, в процессе развития находились в тесной связи с развитием органического мира. Свойства одних микроорганизмов формировались в сообществе с другими микроорганизмами. Особенности морфологии и биохимии микробной клетки делали их взаимное влияние при совместном развитии (в осадках, пленках, колониях и т. д.) особенно глубоким.

Можно высказать предположение, что при эволюции микробов наследственность обогащалась преимущественно первичным (неполовым) способом — в частности, проникновением некоторых продуктов метаболизма одних клеток в другие.

Поэтому наиболее принципиальные изменения наследственности микробов, охватывающие превращение видов, были получены именно воздействием на них другими микробами. Пути этого воздействия уже достаточно четко очерчиваются:

1) совместным культивированием микробов на средах;
2) культивированием в одной и той же среде, но при изоляции их друг от друга полупроницаемой мембраной;
3) воздействием убитыми микроорганизмами на жизнедеятельность других форм микробов;
4) выращиванием одних форм на средах с добавлением продуктов жизнедеятельности других, на экстрактах, полученных от них, и т. д.;
5) воздействием трансформирующими веществами (дезоксирибонуклеиновой кислотой), полученными из микробной клетки химическими методами.

В промышленной микробиологии, благодаря догматически принятому принципу применения микроорганизмов в чистых культурах, этот путь направленного изменения наследственных свойств микробов до настоящего времени оставался вне сферы исследований. Между тем он заслуживает самого пристального внимания и сулит неисчерпаемые возможности, именно в отношении глубокого изменения обмена веществ микробной клетки. В этом отношении накопленный медицинской микробиологией опыт должен быть всемерно учтен.

Путь «наведения» на одни промышленные микроорганизмы свойств других, обладающих ценными свойствами, очень перспективен. При селекции дрожжей также имеет значение половая гибридизация (Косиков [5]).

В промышленной микробиологии накопился значительный материал по применению смешанных культур микроорганизмов. В некоторых практических областях, в частности при подборе смешанных культур дрожжей для виноделия, спиртового, пивоваренного производства, надежды, возлагавшиеся на эти культуры, не оправдались, и в промышленности они не нашли широкого применения. Однако нам представляется, что в этом направлении следует усилить работы. Постановка углубленных эколого-микробиологических исследований может значительно помочь. Больше внимания следует уделять изучению определенных биоценологических отношений микроорганизмов в природе.

Наши работы по изучению взаимоотношений дрожжей и молочнокислых бактерий в естественных, тесно сложившихся сообществах подсказали нам возможность изменения биохимизма дрожжевой клетки под влиянием культивирования ее с некоторыми видами молочнокислых бактерий.

В частности, путем длительного культивирования расы Ркацители-6 с молочнокислыми бактериями Lactobacterium buchneri, штамм 114, нам удалось резко снизить способность дрожжей к накоплению летучих кислот, что особенно существенно для первичного виноделия. Улучшился при этом и характер осадка дрожжей.

Выведенная этим методом раса РМ прошла производственное испытание на двух заводах (совхоза № 1 им. Ховренко и совхоза № 7 «Узбеквино»). При этом ценные свойства данной расы выявились. Сохранился характер ее невзмучивающегося осадка. Но особенно существенно, что направленно полученная способность образовывать лишь ничтожное количество летучих кислот проявилась и в производственных условиях. В совхозе № 1 вино (Рислинг), приготовленное с расой РМ, обладало максимальным количеством летучих кислот в 0,2‰ (а с исходной расой Ркацители-6—0,5‰); в совхозе № 7 вино (Баянширей) с расой РМ содержало летучих кислот 0,12—0,15‰. Вина на новой расе получили высокую оценку.

В настоящее время мы изучаем устойчивость свойств данной расы. Проводятся также исследования по направленному изменению свойств производственных рас под воздействием других штаммов микроорганизмов и веществ, полученных от них.

Мы остановились лишь на некоторых принципах, которые, как нам

кажется, играют существенную роль в сложной и разносторонней работе по селекции микроорганизмов для производства. Чем глубже мы заглядываем в интимные стороны взаимоотношения микроорганизма со средой обитания, чем тоньше стараемся понять природу формирования ценных свойств в процессе становления и развития, тем действеннее наши методы селекции.

Практика и в данном случае является верным критерием и судьей правильности теоретических построений.

Среднеазиатский филиал Института виноделия и виноградарства «Магарач»
и
Институт сельского хозяйства
Академии Наук Узбекской ССР

Получено 10.IX.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Квасников Е. И. и Петрушенко О. П. Азотобактер в поливных почвах Узбекистана при травопольной системе севооборотов. Доклады Академии Наук Узб.ССР, 5, 1951.
2. Квасников Е. И. и Сумневич М. Г. Силосование дикой растительности в условиях Узбекистана. Социалистическое сельское хозяйство Узбекистана, 2, 1951.
3. Квасников Е. И. и Хроликова В. Г. Новые расы дрожжей в виноделии Узбекистана. Доклады Академии Наук Узб.ССР, 7, 1948.
4. Квасников Е. И. и Хроликова В. Г. Дрожжи в виноделии Средней Азии. Виноделие и виноградарство СССР, 7, 1950.
5. Косиков К. В. Гибридизация как фактор изменчивости у микроорганизмов. Природа приспособления дрожжей к сбраживанию сахарозы. ДАН СССР, LXIII, № 5, 1948.
6. Кудрявцев В. И. О самостоятельности видов S. cerevisiae и S. ellipsoideus. Микробиология, XV, вып. 6, 1946.
7. Кудрявцев В. И. О непрерывной селекции микроорганизмов из производства. Микробиология, XX, вып. 2, 1951.
8. Рябченко И. М. Дрожжи для шампанского производства. Тр. Краснодарского ин-та пищевой промышленности, вып. 3, стр. 237, 1948.
9. Саенко Н. Ф. Повышение спиртоустойчивости хересных дрожжей путем их направленного воспитания. Виноделие и виноградарство СССР, № 2, 22, 1950.
10. Якубовский К. П. Дрожжи расы «Я» для производства спирта из патоки. Спиртоводочная промышленность, № 3, стр. 18, 1938.

О МЕТОДЕ НЕПРЕРЫВНОЙ СЕЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ПРОИЗВОДСТВА[1]

И. М. Рябченко

Опубликованная в журнале «Микробиология» № 2 за 1951 г. статья В. И. Кудрявцева «О непрерывной селекции микроорганизмов из производства» поднимает вопрос, имеющий большой теоретический и практический интерес. С основными положениями этой статьи мы познакомились уже раньше — на конференции микробиологов винодельческой промышленности, состоявшейся в Ялте в июне 1950 г. На этой конференции Кудрявцев заострил внимание присутствующих на необходимости более широкого внедрения в практику бродильной промышленности метода непрерывной селекции микроорганизмов из производства.

Мы считаем, что этот метод является перспективным и что правильное использование его может иметь большой производственный результат. Необходимо приложить все усилия к тому, чтобы этот метод всемерно внедрялся в практику и производства бродильной промышленности могли бы получать все улучшающиеся расы микроорганизмов, в частности дрожжей для виноделия. Необходимо в достаточной мере популяризовать этот метод, подвергнуть его широкому обсуждению и уточнению в деталях, а также увязать его с другими методами улучшения микробов, в частности дрожжей: гибридизацией и направленным воспитанием.

Метод непрерывной производственной селекции является применением в микробиологической практике основного положения мичуринского биологического учения о единстве среды и организма; он может стать способом борьбы с неизбежным ухудшением (с производственной точки зрения) однажды выделенных чистых культур микробов при длительном лабораторном культивировании их в условиях, резко отличных от производственных.

Микробы при хранении в музейных условиях испытывают совершенно иные воздействия окружающей среды по сравнению с теми, при которых формировался определенный тип питания, вырабатывалась биохимическая специфичность данной расы. Благодаря длительности такого воздействия появляются в результате приспособления значительные изменения в биологических особенностях микроорганизма. Эти изменения закрепляются наследственно и определяют характер дальейшего развития. Микроорганизмы, как и макроорганизмы, говоря словами Т. Д. Лысенко, «тесно связаны с условиями внешней среды и не только связаны, но и определенным образом пригнаны к среде, в которой они живут». Таким образом, изменение условий окружающей среды закономерно приводит к адэкватным изменениям биологических особенностей микроорганизмов — с большей или меньшей скоростью в зависимости от большего или меньшего консерватизма природы данного организма. Единство организма микробов и окружающей среды хорошо определяет Мейсель [1]: «Особенности взаимоотношения одноклеточных с внешней средой привели к возникновению в процессе эволюции специально приспособленных к изменчивым условиям существования клеток организмов,

[1] Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по вопросам селекции микроорганизмов.

обладающих весьма устойчивым протопластом и хорошо выраженной способностью приспособления к меняющимся условиям среды. Устойчивость этих организмов удачно сочетается с физиологической активностью, с широкой амплитудой индивидуальной изменчивости».

С производственной точки зрения такая изменчивость микроорганизмов в зависимости от условий культивирования имеет большое значение. Очень часто направление изменений в биологических особенностях микроорганизмов при коллекционном хранении является таким, при котором теряются их производственно ценные свойства. Практика винодельческой промышленности знает много примеров, подтверждающих данное положение. Так, не раз отмечалось ухудшение производственных признаков хорошей расы винных дрожжей Штейнберг 1892 г. в результате музейного хранения. Исследования Подопригора [2] дают интересный материал по этому вопросу. Автор подвергал сравнительному изучению дрожжи Штейнберг 1892 г., полученные им из разных лабораторий — Ленинградского института микробиологии, Одесской опытной станции виноградарства, Всесоюзного научно-исследовательского института виноградарства и виноделия «Магарач», Новочеркасского научно-исследовательского института виноградарства и виноделия, Анапской опытной станции виноградарства и Ростовского завода шампанских вин.

В результате исследования было установлено различие дрожжей одной и той же расы в бродильной активности, культуральных признаках, спорообразовании и т. д. Автор приходит к следующему выводу: «В связи с этим можно с уверенностью сказать, что под влиянием разных условий существования, в которые попали дрожжи этой расы, они изменили свои свойства в различных направлениях. Таким образом, можно считать, что дрожжи, известные в различных районах как чистая культура Штейнберг 1892 г., не идентичны, а фактически приобрели новые свойства и одни в большей, другие в меньшей степени уклонились от исходной расы, выделенной Мюллер-Тургау».

Нашими наблюдениями за поведением этой расы дрожжей в условиях шампанского производства также было установлено, что дрожжи Штейнберг 1892 г. к настоящему времени в значительной степени изменили свои положительные производственные признаки в худшую сторону. Особенно быстро изменяются при музейном хранении культуральные и биохимические признаки дрожжей чистой культуры, выделенных из «дикого» дрожжевого материала. Так, например, быстро потеряли свои производственно ценные признаки в условиях лабораторного хранения расы дрожжей, выделенные Тюниной [4] при изучении распространения дрожжей на Кубани (раса № 89). Такая же судьба постигла хорошую расу винных дрожжей Су-псех I, выделенную Дрбоглав из «диких» дрожжей Анапского района. Повидимому, в этих случаях дрожжи были с незакрепленной наследственностью, в результате чего хранение их в лабораторных условиях, отличных от тех, при которых они создавались, способствовало быстрому изменению и потере этими расами отдельных полезных для производства признаков.

Учитывая такую лабильность микроорганизмов, способность довольно быстро «подгоняться» к факторам окружающей среды, действующим длительное время, мы должны приветствовать широкое внедрение в практику метода непрерывной производственной селекции,— метода, направленного на сохранение и улучшение производственно полезных биологических признаков микроорганизмов. Только в производственных условиях создаются все необходимые предпосылки для приобретения и закрепления признаков, ценных для соответствующего производства.

Применение метода непрерывной селекции микроорганизмов из производства (например, в винодельческой промышленности) дает возможность улучшать расы дрожжей, так как при селекции этим методом

дрожжи сохраняемой и улучшаемой расы развиваются в сложных производственных условиях, когда происходит изменение химического состава среды не только в результате сбраживания виноградного сахара, но и вследствие образования продуктов обмена веществ посторонними микроорганизмами, попадающими в виноградный сок различными путями. В таких условиях может происходить образование более сильных особей дрожжей улучшаемой расы, которые успешно справляются с вредным воздействием увеличивающейся концентрации спирта и с продуктами жизнедеятельности конкурирующих видов микроорганизмов виноградного сока. Воздействие же конкурирующих видов, как известно, бывает иногда очень значительным.

В условиях межвидовой борьбы, в зависимости от особенностей окружающей среды, отдельные особи приобретают свойства, которые делают их более приспособленными в экологическом отношении и более полезными для производства.

В связи с вопросом, поднятым Кудрявцевым о необходимости использовать метод непрерывной селекции микроорганизмов из производства, мы считаем уместным дать некоторый материал из результатов работ, которые мы проводили в течение многих лет, по выделению и улучшению дрожжей как для хлебопекарного производства, так и для виноделческой промышленности.

Селекция дрожжей для хлебопекарного производства

Начиная с 1929 по 1946 г. нами периодически проводилось выделение дрожжей чистой культуры из пекарских дрожжевых банок краснодарских хлебопекарных производств (в таких банках, под защитой смол хмелевого отвара, происходит развитие элективной культуры пекарских дрожжей). Получаемые чистые культуры испытывались на бродильную активность — скорость поднятия теста в цилиндрах. Испытание проводилось по следующей разработанной нами методике [3]: испытуемыми дрожжами заражается пробирка с 10 мл охмеленного сусла и ставится на брожение в термостат; через 48 часов бродящая жидкость переливается из пробирки в колбочку, содержащую 200 мл охмеленного стерильного пивного сусла около 7% по Балг. Колбочка помещается затем в термостат при 27—30°. Через 48 часов дрожжи в колбочке настолько размножаются, что на них можно делать замес теста. Для замеса теста берется 150 мл бродящей жидкости и вливается в 200 г муки; замес теста производится 5 минут, после чего тесто скатывается колбаской и помещается в мерный цилиндр на 500 мл, при этом отмечается время посадки и занятый объем; цилиндр с тестом ставится в термостат при температуре 30°. О бродильной активности дрожжей судят по увеличению объема теста, который отмечается через равные промежутки времени. По результатам испытания на бродильную активность отбирались наилучшие культуры, причем при отборе принималась во внимание не только скорость подъема, но и ароматичность теста. Самые лучшие из отобранных рас применялись в производстве для приготовления жидких дрожжей. Затем периодически из производственных жидких дрожжей вновь выделялись чистые культуры (обычно от 50 до 75), которые подвергались изучению и отбору (наилучших из них). В результате проведенной работы была получена раса № 12, обладавшая наследственно закрепленными признаками, ценными в производственном отношении. Во время войны 1941—1945 гг. эта раса была утеряна. После войны, используя указанную методику, мы вновь выделили расу дрожжей, обладавшую высокими производственными показателями.

В лаборатории дрожжи для хлебопекарного производства хранились в охмеленном пивном сусле; пересев их производился ежемесячно. При

этом периодически (через 3—4 месяца) культура дрожжей размножалась также и в стерильной хмелевой заварке муки.

Селекция дрожжей для первичного виноделия и шампанского производства

По селекции дрожжей для первичного виноделия мы проводили работы с 1932 г., вначале в учебном хозяйстве Института специальных технических культур, а затем (с 1938 г.) в винодельческих производствах Комбината шампанских вин Абрау-Дюрсо.

Селекция проводилась по такой методике: вначале выделялись чистые культуры дрожжей из дрожжевых осадков наиболее качественных вин, которые получались сбраживанием виноградного сока на определенной расе винных дрожжей Saccharomyces ellipsoideus.

Затем из выделенных чистых культур отбирались такие, которые при опытном сбраживании в лабораторных условиях обнаруживали бродильную активность не ниже исходной расы, давали при сбраживании виноградного сока вино с хорошими дегустационными показателями и некоторые улучшения в смысле формирования осадка, скорости осветления и увеличения устойчивости к SO_2 и к низким температурам. Отобранные чистые культуры использовались в следующий сезон виноделия.

При лабораторном хранении дрожжи чистой культуры развивались на виноградном соке, а также на плотной среде — виноградный сок + + агар. В итоге проведенной работы мы получили расы с закрепленными производственно полезными признаками, которые не изменялись при хранении в лабораторных условиях в течение двух-трех лет. На основании этого нам кажется вполне допустимым в определенных случаях подвергать используемую расу в первичном виноделии производственной селекции не каждый год, а реже, но лишь при хранении ее в условиях, приближающихся к производственным.

Начиная с 1938 г. подобная работа нами проводилась и для получения наиболее подходящих шампанских дрожжей. При этом вначале мы использовали для периодического выделения чистых культур осадки недегоржированного шампанского вина, получаемого в искусственных стерильных условиях. Впоследствии мы изменили эту методику и выделение чистых культур стали производить из дрожжевых осадков производственных образцов шампанского вина, имевших хорошие показатели по активности брожения при шампанизации, по осветлению вина, по характеру осадка и скорости ремюажа (сведение осадка дрожжей на пробку бутылки шампанизируемого вина).

Необходимость внесения изменения в методику вызывалась тем, что при шампанизации вина, несмотря на ряд принимаемых мер (фильтрация вина, поступающего на приготовление тиражной смеси; тщательная мойка коммуникации, бутов и бутылок; соблюдение стерильности при приготовлении дрожжевой разводки), шампанизируемое вино всегда имеет известное загрязнение посторонней микрофлорой, в том числе и дрожжами других видов, которые могут оказывать неблагоприятное влияние на развитие чистой культуры. Поэтому дрожжи чистой культуры должны быть приспособлены путем производственной селекции к преодолению и этого влияния.

Ежегодно выделяемые наилучшие расы, после лабораторного испытания путем шампанизации, использовались в производстве для массового тиража. Проводимая нами селекция в производственных условиях привела к получению рас с закрепленными положительными для шампанского производства свойствами. Так была получена и улучшена раса № 7, на которой успешно проходит шампанизация на заводе шампанских вин в Абрау-Дюрсо (а также и на других заводах). В 1950 г. в Абрау-Дюрсо шампанизация вина была проведена на расе № 7, кото-

рая обеспечила равномерное и активное выбраживание шампанизируемого вина и хорошее осветление, а также образование легко ремюируемого осадка.

Таким образом, результаты наших работ показывают целесообразность использования метода периодической (или по Кудрявцеву — непрерывной) производственной селекции для сохранения и улучшения производственно ценных рас шампанских дрожжей. Для подтверждения приводим данные по одному из этапов работы, когда для установления общей закономерности проводились наблюдения по влиянию производственной селекции на улучшение нескольких различных рас дрожжей. Новые культуры (производные), выделенные из дрожжевых осадков вин, шампанизированных на соответствующих расах дрожжей (исходные), были подвергнуты сравнительному испытанию в процессе шампанизации. Результаты испытания (среднее из двух повторностей) приведены в следующей таблице.

Расы дрожжей	Давление в бутылках (в атм) при 10° через				Характер осадка
	10 дней	15 дней	25 дней	8 мес.	
Исходные № 7 . . .	2,5	3,5	4,0	4,8	Вначале липнущий, но при созревании хорошо отстающий и хорошо ремюируемый
Производные № 7:					
№ 7	2,8	3,8	4,3	5,0	То же
№ 14	2,3	3,3	3,9	4,7	Вначале очень липнущий, при созревании отходит от стенок бутылки с трудом, ремюируется плохо
№ 16	2,5	3,2	3,9	4,8	То же
Исходные Ш-2 . . .	0,2	0,8	1,5	4,5	Осадок плотный, хорошо отстает от стенок бутылки, ремюируется хорошо
Производные Ш-2:					
№ 9	0,5	1,2	1,9	4,6	То же
Исходные Штейнберг 1892	0,3	1,0	1,5	4,5	Осадок плотный, зернистый, хорошо отстает, легко сводится на пробку
Производные Штейнберг 1892:					
№ 8	0,4	1,2	1,8	4,7	То же
Исходные № 4 . . .	1,5	2,7	3,5	4,9	Осадок вначале липнущий, при созревании отходит с некоторым трудом, ремюируется хорошо
Производные № 4:					
№ 18	1,6	3,0	3,7	4,9	То же

Данные таблицы позволяют установить наличие определенной тенденции к появлению в пределах расы особей, обладающих более высокими производственными показателями.

В связи с этим возникает вопрос: как выявить эти особи, какое количество новых чистых культур необходимо выделить для получения улучшенного варианта данной расы? Для того чтобы с большей гарантией выделять особи, давшие изменения в лучшую, желаемую сторону, нами применяется следующий способ: капля дрожжевого осадка вина, кото-

рое показало при шампанизации хорошие производственные результаты, переносится в среду несколько более «тяжелую», чем это бывает (в среднем) на производстве, а именно: вино (спирта 12% объемного) + + сахар (5%), которая затем выдерживается при низких температурах (12—14°). В этих условиях из огромного количества клеток, внесенных в винную среду с каплей дрожжевого осадка, быстрее начнут развиваться особи, наиболее приспособленные к данной среде. Из забраживаемой жидкости, используя верхний слой, где находятся более активные особи, производят выделение около 50—75 чистых культур, из которых затем отбираются наилучшие.

Большое значение имеет также вопрос о способе хранения отобранных рас дрожжей. Шампанские дрожжи обычно хранились нами в винной среде с пересевом через один месяц. Перед использованием в производстве дрожжи «активизировались» проведением через опытную шампанизацию при низких температурах (12—14°) с соблюдением надлежащей стерильности. Бутылки, в которых шампанизация вина проходила нормально, использовались как исходная чистая культура для производственного применения.

Необходимо отметить при этом, что мы наблюдали повышение бродильной активности шампанских дрожжей в результате лабораторного хранения их в герметически замкнутом сосуде в винной среде при повышенном углекислотном давлении и при низких температурах (10—12°).

Метод непрерывной селекции микроорганизмов из производства может иметь значение не только для бродильной промышленности, но и в других областях использования микроорганизмов, например в использовании азотобактера при получении азотобактерина. Практически для приготовления азотобактерина, применяемого под многие культуры и в разных почвенно-климатических условиях, размножают однажды выделенную расу (например, 54), которая годами хранится в условиях, отличных от тех, в которых она будет развиваться (почва, растение). Возможно, что этим, в известной степени, объясняется неустойчивость положительных результатов от применения азотобактерина. Мы придерживаемся того мнения, что и в этом случае целесообразно периодически обновлять расу азотобактера путем выделения активных особей из производственных полевых условий и хранить культуры азотобактера в среде, максимально приближающейся к той, в которой должно проходить развитие данной расы.

Учитывая специфическое воздействие корневой системы отдельных видов сельскохозяйственных растений на микрофлору ризосферы, необходимо производить селекцию рас азотобактера с целевым назначением — под определенную культуру и для определенных почвенно-климатических условий, используя как исходный материал местные расы.

Приведенный выше небольшой материал подтверждает значимость метода непрерывной (или периодической) селекции микроорганизмов из производства, который логически вытекает из основных положений мичуринского учения.

Применяя этот метод и сочетая с ним производственные и лабораторные воздействия, можно получать расы микробов, более приспособленные к специфическим условиям определенного производства.

Кубанский сельскохозяйственный институт

Получено 18.V.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мейсель М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов. Изд. АН СССР, 1950.
2. Подопригора С. В. Изучение расы дрожжей Штейнберг 1892 г. из разных местностей. Виноделие и виноградарство СССР, № 9—10, 1940.
3. Рябченко И. М. К вопросу выпечки хлеба на жидких культурных дрожжах на Краснодарском хлебозаводе. Тр. Ин-та спец. и техн. культур, I, вып. IV, 1932.
4. Тюнина Е. В. Круговорот дрожжей. Тр. Сев.-Кавк. ин-та спец. и техн. культур, I, вып. I, 1931.

О СЕЛЕКЦИИ ПРОИЗВОДСТВЕННО-ЦЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ[1]

Н. И. Гамова-Каюкова

Вопросы, поднятые Кудрявцевым в статье «О непрерывной селекции микроорганизмов из производства», заслуживают большого внимания [6]. Вопрос этот весьма актуален в связи с необходимостью систематического улучшения свойств микроорганизмов, применяемых в различных производствах.

Данные мичуринской биологии позволяют по-новому пересмотреть принципы селекции микроорганизмов в различных отраслях пищевой промышленности и предъявить более высокие требования к рабочим культурам микроорганизмов. Этот участок в микробиологии разрабатывается недостаточно интенсивно. Автогенетические представления, как указывает Кудрявцев, оказали свое отрицательное влияние и в области микробиологии пищевой промышленности затормозили улучшение полезных рас микробов.

В то время как у нас улучшаются сорта растений, выводятся новые породы скота, вопрос о селекции микроорганизмов для производственных целей ставится впервые для широкого обсуждения.

На примере, приведенном Кудрявцевым из области селекции дрожжей, мы видим, что некоторые расы завоевали положение «монополистов» и выпускаются из музеев, где культивируются в однообразных «пробирочно-музейных» условиях без учета особенностей сырья и производства. Если в области микробиологии пивоварения и виноделия имеются недочеты, то в других областях, где микроорганизмы также являются основой производства, дело обстоит не лучше.

Возьмем в качестве примера вопрос о чистых культурах уксуснокислых бактерий. Несмотря на то, что производственные культуры уксуснокислых бактерий были выделены Геннебергом около 50 лет назад [11], до сих пор за рубежом распространено мнение, что производство уксуса не удается на чистых культурах [12, 14].

Между тем вопрос применения чистых культур в уксусной промышленности может считаться решенным и апробированным. В СССР Шапошниковым был пущен уксусный завод в Казани с применением чистой культуры Bact. curvum. Этот завод работал без угриц [9] с высокой производительностью. Мантейфель, Иерусалимскому и Нарожной удалось повысить производительность работы Московского уксусного завода путем введения в уксусообразователи той же культуры, на которой был пущен Казанский завод [8]. Наши работы по подбору культур уксуснокислых бактерий для пуска новых уксусных заводов также увенчались успехом. Серпуховской завод работал также с высокой производительностью и не знал о существовании угриц [3].

Неудачи, о которых упоминается в зарубежной литературе, следует отнести за счет того, что подбор уксуснокислых бактерий производился, очевидно, без достаточных теоретических предпосылок, без всестороннего испытания культур, а также вследствие нарушений оптимального

[1] Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по вопросам селекции микроорганизмов.

технологического режима как во время акклиматизации и расселения культуры в уксусообразователях, так и в период эксплуатации. При изучении нами производительности у выделенных из разных производств культур уксуснокислых бактерий выяснилось, что одна из четырех испытанных культур при «обратных заливках», содержащих 10% уксусной кислоты, перестала работать и не возобновила работы в оптимальных для нее условиях, в то время как другие, адаптируясь, продолжали повышать производительность даже при кислотности затора 10—11%. Эту способность уксуснокислых бактерий адаптироваться к высокому содержанию уксусной кислоты в настоящее время использует Московский уксусный завод на котором Трусовой удалось постепенно повысить крепость сливаемого уксуса и освободиться от «сорных» рас при переводе производства на новый технологический режим.

Нам пришлось ознакомиться с весьма интересными культурами уксуснокислых бактерий из образцов уксуса колхозов Западной и Восточной Грузии. Наряду с бактериями, окисляющими спирт в уксусную кислоту, в пределах 6—8% встречались слабые уксусообразователи, продуцирующие не более 2—3% уксусной кислоты, но придающие уксусу чрезвычайно приятный аромат. Пленка у этих бактерий была точечной и сухой. Они подробно описаны нами как новый вид Acetobacter Nikitinskii [2]. Призыв Кудрявцева селекционировать культуры из производства должен найти благоприятную почву в уксусной промышленности.

Что же касается вопросов о количестве культур, требуемых для селекционирования лучших рас, то надо полагать, что в популяции культуры, хорошо работающей в производстве, всегда имеется достаточное количество микробов с хорошими производственными показателями. Поэтому нецелесообразно стремиться к выделению большого количества культур. В своих поисках производственно-ценных культур мы держались принципа «лучше меньше да лучше», выдвигая на первое место всестороннее изучение показателей, интересующих производство. Достаточно было выделить 10—30 культур из хорошо работающего ценоза, чтобы обнаружить активных представителей работающей культуры. Хуже дело обстоит, когда выделение производится из природных условий: тогда действительно приходится «охотиться» за большим количеством культур, чтобы дать объективный ответ о частоте находок тех или иных активных и полезных микроорганизмов в природных условиях.

Прежде чем перейти к подбору и селекции производственных микроорганизмов, необходимо, конечно, выработать те минимальные показатели, по которым культура должна отбираться и селекционироваться.

В отношении селекции уксуснокислых бактерий для производства виноградного уксуса и других видов уксуса эти показатели должны быть следующими: сильно выраженная окислительная способность и быстрота окисления; широкий температурный диапазон развития культуры; стойкость первоначальных признаков; устойчивость к кислоте. Для культур скорого способа — нетребовательность в отношении питания и рыхлая пленка. Культуры с кожистыми и слизистыми пленками типа Bact. xylinum не должны селекционироваться. Культуры уксуснокислых бактерий, не образующие пленок, должны изучаться и селекционироваться [3, 15].

Уже упомянутая стойкость культуры к уксусной кислоте имеет большое значение. При изучении уксуснокислых бактерий на среде с различными концентрациями уксусной кислоты нами наблюдалось, что с повышением содержания кислоты от 2 до 10% соответственно повышалось отмирание бактерий, при содержании 9% кислоты выживало только 0,6% от исходного количества бактерий. Оставшиеся, адапти-

руясь к повышенному содержанию уксусной кислоты, через некоторое время оказывались способными вызывать нормальный процесс уксусообразования.

По вопросу, затронутому Кудрявцевым в отношении применения смесей чистых культур, следует отметить, что в отношении уксуснокислых бактерий мы на основании нашего опыта и наблюдений над культурами уксуснокислых бактерий из Грузии склонны думать, что смеси действительно более эффективны, чем культуры, взятые в отдельности [2, 3]. Но составление комбинированных культур должно базироваться на теоретически обоснованных предпосылках, и культуры, входящие в симбиоз, должны тщательно изучаться.

При подборе культур для молочных и квашеных продуктов, а также для созревания сельдей и других продуктов, приготовление которых связано с жизнедеятельностью специфических микроорганизмов, вопрос, поднятый Кудрявцевым, не менее актуален. Предложение Кудрявцева производить селекцию микроорганизмов из производства должно развязать инициативу и в области молочной промышленности по подбору производственных культур, повышающих качество масла и молочнокислых продуктов.

В настоящее время в состав закваски для масла вводятся сильные кислотообразователи Str. lactis, стрептококки типа Str. cremoris, слабые кислотообразователи Str. citrovorus и Str. paracitrovorus, рекомендуемые для придания маслу соответствующего аромата. Str. cremoris и Str. citrovorus в лабораторных условиях с трудом культивируются, а на производстве быстро вырождаются. Стойкость масла, приготовленного на этих комбинированных культурах, к тому же подвергается сомнению. Исчерпывающих работ, которые занимались бы генетическими отношениями полезных стрептококков Str. cremoris, Str. citrovorus и других не имеется [4, 10].

В свете учения о единстве организма со средой [7] изучение генетических связей стрептококков должно быть поставлено на повестку дня. Вопрос этот актуален, и в молочной промышленности ему должно уделяться особое внимание не только при селекции микробов для масла, но и для кисломолочных продуктов, сыра и пр., тем более что молочные продукты потребляются не только здоровыми, но и больными и детьми. Что же касается показателей, по которым отбираются молочнокислые и ароматообразующие стрептококки, то в настоящее время такие показатели, как кислотообразование и отношение к лакмусовому молоку явно недостаточны. На современном уровне знаний, когда известно, что молочнокислые, фекальные стрептококки принадлежат к серологически разным группам [13], следует, чтобы преципитирующие и агглютинирующие сыворотки, позволяющие дифференцировать эти две группы стрептококков, были широко доступны. Селекционируемые культуры стрептококков должны быть исчерпывающе паспортизированы. Группа стрептококков во всем своем разнообразии ждет еще дальнейшего изучения как в отношении классификации, так и в вопросе сапрофитического состояния отдельных патогенных форм [1, 5].

В деле селекции микроорганизмов кефира и кумыса и изучения их симбиозов также предстоит немалая работа. На современном уровне знаний некоторые данные относительно состава микрофлоры этих продуктов устарели и необходимо начать поиски того микроба стромы, который до сих пор не выделен.

В области подбора культур для производства маргарина Палладина в настоящее время предлагает включить в закваску наравне с молочнокислыми и ароматообразующими бактериями грамотрицательные палочки, продуцирующие витамин В (доклад на конференции в Институте микробиологии Академии Наук СССР, 1951). Из закваски Палладиной, полученной из Молочного института, нами были выделены грам-

отрицательные палочки, оказавшиеся уксуснокислыми бактериями, продуцирующими значительное количество уксусной кислоты на сусле со спиртом. Вопрос о распространении уксуснокислых бактерий в молочных продуктах и их значении в заквасках, поскольку эти бактерии нами также выделялись из закваски кефира и кефира разных производств, требует дальнейшего всестороннего изучения.

Что касается производства квашеных продуктов (огурцы, капуста, яблоки, помидоры и пр.), играющих большую роль в пищевом рационе населения не только из-за своих вкусовых свойств, но и из-за наличия в них витаминов, а также рыбных продуктов, «созревание» которых происходит с участием микробов, то здесь также открывается широкое поле деятельности в области селекции микроорганизмов и подбора состава для смешанных культур. В связи с этим должен изучаться опыт лучших производств, а также и состав микрофлоры продуктов для дальнейшего выделения производственно ценных микробов, участвующих в формировании этих продуктов.

Нам представляется, что работа по селекции полезных микробов не так проста. Привлечение к участию в этой работе заводских лабораторий не исчерпает вопроса. Необходимо обеспечить организованное руководство по селекции полезных микроорганизмов. Очевидно, Институт микробиологии Академии Наук СССР должен быть направляющим центром, призванным координировать тематическую работу в этом направлении как институтов, так и лабораторий на производствах.

Работы по селекции полезных микробов откроют новую страницу в развитии общей микробиологии и будут способствовать расцвету нашей отечественной пищевой микробиологии.

Лаборатория Московской
городской санитарно-эпидемиологической станции

Получено 11.VI.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бердников А. М. К вопросу о видовой группировке микроорганизмов из группы стрептококков. Диссертация. СПб, 1910.
2. Гамова-Каюкова Н. И. Селекция уксуснокислых бактерий. Микробиология, XII, вып. 5, 1945.
3. Гамова-Каюкова Н. И. Подбор уксуснокислых бактерий для получения уксуса по скорому способу. Микробиология, XIX, вып. 2, 1950.
4. Королев С. Н. Основы технической микробиологии молочного дела. Сельхозгиз. М.— Л., 1932.
5. Красильников Н. А. Определитель бактерии и актиномицетов. Изд. Академии Наук СССР, М.— Л., 1949.
6. Кудрявцев В. И. О непрерывной селекции микроорганизмов из производства. Микробиология, т. XX, вып. 2, 1951.
7. Лысенко Т. Д. Агробиология. Работы по вопросам генетики, селекции и семеноводства. Огиз — Сельхозгиз, М.— Л., 1948.
8. Мантейфель А. Я., Иерусалимский Н. Д. и Нарожная Е. С. Повышение производительности действующих уксусных заводов путем внедрения культурных рас бактерий и рационализация технологического режима. Сб. науч.-иссл. работ Центр. научно-иссл. Лаборатории бродильной промышленности. Пищепромиздат, М.— Л., 1940.
9. Шапошников Н. В., Дульман Т. М., Бехтерева М. Н. Пуск уксусного завода в Казани на культуре Bact. curvum. Сб. работ Центр. научно-иссл. Лаборатории бродильной промышленности. Пищепромиздат. М.— Л., 1940.
10. Hammer B. W., Babel F. J. Bacteriology of butter cultures. A review. J. Dairy Sci., 26, 2, 1943.
11. Henneberg W. Handbuch der Gärungsbakterien, 2, Berlin, 1925.
12. Frobisher M. Fundamentals of Bacteriology, Philadelphia, London, 1948.
13. Shattock P. M. The faecal streptococci. XII Intern. Dairy Congress. Stockholm, 2, 923, 1949.
14. Tanner F. The microbiology of roods. Illinois, p. 174, 1944.
15. Vandecaveye S. C. Studies on certain non-pellicule forming vinegar. J. Bact., 14, 116, 1927.

О МЕТОДИКЕ СЕЛЕКЦИИ ГРИБОВ В УСЛОВИЯХ ПРОИЗВОДСТВА[1]

З. Э. Беккер

О перспективности непрерывной селекции в условиях производства

Предложение В. И. Кудрявцева о непрерывной селекции микроорганизмов из производства, заключающееся в многократном отборе наилучших особей, вновь возвращаемых в условия производства, следует приветствовать как правильный подход, в основном опирающийся на принципы мичуринской биологии. Мысли о целесообразности этого подхода возникали у микробиологов и микологов, работающих в разных бродильных производствах, и в ряде случаев при использовании этого принципа достигались хорошие результаты.

Если справедливо положение Кудрявцева о том, что применяемые в ряде производств виды дрожжей возникали при определенных условиях, созданных человеком для своих целей, то этот подход вполне оправдан, так как в этом случае условия, существующие на производстве, и являются естественными условиями местообитания этих дрожжей, наиболее удовлетворяющими их потребности. В этом случае улучшение вида или расы должно иметь место. Однако в связи с применением этого метода улучшения производственной культуры встает ряд вопросов, которые не позволяют излишне его упрощать. Я позволю себе остановиться на них подробнее[2].

Естественное местообитание и потребности применяемых в производстве видов грибов

Т. Д. Лысенко [1] учит нас улучшать породу организмов путем удовлетворения их естественных потребностей, путем «угождения» их привычкам, приобретенным ими в процессе их природной эволюции. Возникает вопрос, являются ли условия производства привычными для организма гриба, естественными для него условиями? Помимо сахаромицетов, в производственной практике применяются и другие грибы. Это, прежде всего Aspergillus niger, используемый для получения лимонной кислоты, амилазы, танназы и других препаратов. Далее, Eremothecium ashbyii, применяемый для получения рибофлавина; сырные пенициллы Penicillium camemberti и Penicillium roquefortii продуцент амилазы Asp. oryzae; Mucor Rouxii и некоторые другие виды Mucoraceae. Наконец, в последние годы приобретают большое значение культуры грибов, образующих антибиотики, из которых главными являются продукты пенициллина (в основном Penicillium chryzogenum и Penicillium notatum).

Из перечисленных здесь видов грибов очень многие использованы для производственных целей лишь в недавнее время, и к ним никак не

[1] Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по вопросам селекции микроорганизмов.

[2] Ввиду недостаточно глубокого знакомства с другими микроорганизмами автор, работающий в области микологии, будет вынужден фиксировать здесь внимание в основном на видах гифообразующих грибов.

может быть приложена гипотеза Кудрявцева относительно образования их в непосредственной близости к человеку.

Они встречаются в природе и в условиях девственных, в тех местах, где еще не ступала человеческая нога, например в почвах тайги или высокогорных областей и т. п. Однако к некоторым видам грибов пищевого значения, как, например сырным пенициллам, предположения В. И. Кудрявцева, вероятно, применимы. Таких культур грибов мало. Большинство же форм, внедренных в производство в последние годы, выделено из природных условий недавно. Например, применяемый в настоящее время амилазный штамм Asp. niger С. выделен с корней гниющего цикория; штамм Penicillium chrysogenum № 1951 выделен с черешка дыни и т. д. Судя по литературным данным, большинство микроорганизмов, применяемых для получения антибиотиков, выделено совсем недавно, и, как правило, из природных субстратов (почва, растительные остатки и т. п.).

Производственные условия в целом ряде случаев не сходны с условиями естественного местообитания этих организмов. Многие из них в производстве выращивают на средах, состоящих из смеси минеральных солей и сахаров, иногда на таких сравнительно редких в природе углеводах, как, например, лактоза. По литературным данным это касается, в частности, продуцентов пенициллина, к культуральной жидкости которых, кроме того, добавляется некоторое количество в достаточной степени ядовитой фенилуксусной кислоты или фенилацетамида.

Продуцент лимонной кислоты Asp. niger выращивается на смеси минеральных солей и сахара, а в момент продукции кислоты даже на одном чистом растворе сахара (Протодьяконов [2]; Шапошников [3]). Таковы условия, максимально благоприятствующие получению нужного продукта, хотя они отнюдь не сходны с условиями естественного обитания организма, максимально «угождающими» его природным привычкам и потребностям.

Возникает вопрос: каков же должен быть наилучший технологический фон для непрерывной селекции в производстве таких организмов, отвечающих их естественным потребностям в природе, т. е. богатый органическими веществами, растительными субстратами или принципиально не сходный с ним, но обеспечивающий оптимальные условия получения нужного нам продукта?

О явлениях стадийности у грибов и их стадийных потребностях

С нашей точки зрения, большим пробелом в излагаемых Кудрявцевым положениях является игнорирование им наличия у микроорганизмов, в частности у грибов, явлений стадийности и связанных с возрастными состояниями различий в их естественных потребностях по отношению к внешней среде. Игнорировать же одно из важнейших положений мичуринской биологии — теорию стадийности — не следует. Следовало бы оценить значение этой теории для мира микроорганизмов. В пользу этого значения говорят как работы Иерусалимского, так и работы автора этой статьи.

В настоящее время установлено, что у плесневых грибов (а также у ряда других аскомицетов), повидимому, существует не менее двух стадийных состояний (вегетативное и спорулирующее), отличающихся друг от друга:

а) различием в типах внутреннего обмена — окисленного в вегетативном состоянии и более восстановленного в спорулирующем;

б) своими цитохимическими и цитологическими особенностями;

в) последовательностью в возникновении вегетативных гиф и конидионосцев (отсюда этажность их в колонии гриба);

г) наличием специфичных потребностей по отношению к внешней среде у гиф этих стадийных состояний, как, например, потребность в богатом питании, витаминах и легко доступных углеводах в вегетативной стадии и в относительном голодании в спорулирующей.

Образование полового плодоношения у грибов этого типа, если оно не редуцировано, повидимому, связано с иными специфическими потребностями, которые еще не полностью изучены. Вероятно, оно сопряжено с наступлением нового стадийного периода.

Пути использования этих фактических данных для производственной практики и для непрерывной селекции, повидимому, должны заключаться в использовании неоднозначных условий среды для разного стадийного состояния организма, соответствующих потребностям организма в данном стадийном состоянии (применения различных питательных сред и других условий технологии на разных этапах развития).

В ряде случаев к этому пришли стихийно, с эмпирических позиций, например, в производстве лимонной кислоты, где выращивание плесени гриба происходит на более разнообразной по составу компонентов среде, а ферментация — на среде более бедного состава (Протодьяконов [2]), или в производстве антибиотиков.

В статье Ли (Lee [6]) о ферментации пенициллина много внимания уделяется вопросу о поддержании так называемой «физиологической молодости» посевного мицелия пенициллa, т. е. фактически использования для засева ферментеров стадийного молодого мицелия и создания благоприятных условий для его выращивания, отличных от условий ферментации.

Значение этого, уже поднимавшегося ранее с позиций теории стадийности советскими учеными вопроса пришлось признать даже стоящим на позициях чистого эмпиризма буржуазным ученым, игнорирующим теорию стадийности, но невольно вынуждаемым жизнью подтверждать ее практикой.

Таким образом, видимо, для создания благоприятного для селекционных работ технологического фона необходимо учесть различия в стадийных потребностях организма в разном состоянии его развития и, следовательно, технология должна быть построена в форме ряда (не менее двух) этапов выращивания в различных условиях среды, из которых каждая должна удовлетворять стадийные потребности организма в данном этапе его развития.

О технологическом фоне для непрерывной селекции в производстве

Уже упоминалось выше, о том, что нередко производственные ферментационные среды (это относится также и к средам для поддержки культур) сильно отличаются от среды естественного местообитания грибных организмов, и, следовательно, применяя их, мы вводим организмы в условия, мало соответствующие приобретенным в процессе естественной эволюции видов стадийным потребностям. С другой стороны, это условия, оптимальные для выявления его способности давать нужный в производстве продукт, условия, как бы тренирующие организм в нужном направлении. К сожалению, опыт показывает, что при применении пересевов популяции организмов на средах производственного типа этой тренировки не получается, как это видно на примере продуцента пенициллина (Whiffen a. Savage, [7]). Селекционный результат получается отрицательный, и как вся популяция в целом, так и отдельные ее особи рано или поздно снижают свою продуктивность при таких пересевах: при пересеве конидиями — раньше, при пересеве мицелием — позднее.

Но есть работы, в которых было достигнуто путем пересевов не

снижение, а, наоборот, повышение продуктивности культуры (Deschayes et Peyré, [4, 5]).

Применяя пересевы на разных средах, авторы этих работ повысили продуктивность штамма Penicillium chrysogenum примерно в 2—3 раза по сравнению с исходным. Следует заметить, однако, что эти авторы перемежали пересевы на обычных агаровых средах с посевами на силикагеле или на глиняных шариках, т. е. до некоторой степени возвращали организм (Penicillium chrysogenum), являющийся частым представителем почвенной микрофлоры, к условиям его естественного местообитания.

Опыт автора говорит о том, что и для других видов плесневых грибов возвращение организма в близкие к естественным условиям местообитания путем посева на субстраты, на которых они встречаются в природе, оказывает благоприятное действие на восстановление и улучшение продуктивности этих форм.

В связи с приведенными выше фактами возникает вопрос: как примирить между собой в одном и том же технологическом процессе, основной задачей которого является получение максимальной продукции, свойства продуктивной среды, в ряде случаев весьма далекой от природных условий и естественно удовлетворяющего стадийным потребностям организма субстрата?

Автор этой статьи полагает, что положительный ответ на этот вопрос можно найти и что его следует искать в изучении потребностей бродильных организмов в их различных стадийных состояниях.

На примере плесневых грибов можно видеть, что потребность в богатых разнообразным органическим питанием естественных субстратах преимущественно свойственна раннему, вегетативному стадийному состоянию организма, тогда как образование производственно важного продукта, безразлично, будь то амилаза у аспергилла или пенициллин, обычно приурочено к более зрелому, более позднему стадийному состоянию. Таким образом, проводя в условиях производства двухэтапное воспитание развивающегося продуцента и пересевая его стадийно молодой мицелий с натурального субстрата на производственную среду для ферментации, можно примирить оба требования и достигнуть одновременно двойного эффекта, а именно: улучшения продуктивности организма в результате получения более мощного и быстро развивающегося мицелия и получения благоприятного для селекционных работ фона, улучшающего породу организма.

О моменте селекционного отбора в условиях производства

Исходя из позиций теории стадийного развития, следует поставить еще один вопрос, весьма важный для селекционных работ в условиях производства, а именно: в какой момент развития производственной культуры следует производить отбор популяции для селекционных целей?

Кудрявцев полагает, что это следует делать по окончании процесса ферментации из загрузок, давших наилучшие результаты.

Со второй частью этого положения можно согласиться, но относительно первой части его возникают серьезные возражения. Из наблюдения над некоторыми ферментационными процессами, как, например, над получением амилазы из культуры Aspergillus niger и другими, известно, что максимальное выделение продукта брожения сопряжено с концом жизненного цикла гриба, с порогом автолиза, и, следовательно, со стадийной старостью организма, причем развитие в производственной глубинной культуре обычно не имеет циклического характера и заканчивается вместо спорообразования автолизом, т. е. биологическим тупиком.

Таким образом, мы видим, и это подтверждается на практике, что селекция на конечном этапе ферментации дает здесь отрицательный результат, так как мы будем иметь дело с наследственно неполноценными и стадийно старыми особями.

Не имея достаточного опыта в работе с сахаромицетами, полагаю, однако, что такого рода положение может иметь место и для них в случае применения селекции на позднем этапе развития по окончании брожения. Соображения этого рода заставляют рекомендовать применять при непрерывной селекции отбор образцов на тех этапах процесса ферментации, когда организм еще находится в состоянии стадийной молодости.

Состояние организма, в котором следовало бы сделать отбор проб для селекции, в данный момент точно предвидеть трудно, но предположительно это должен быть или перелом между двумя стадийными состояниями организма (вегетативным и репродуктивным), или период возобновления роста его во втором (репродуктивном) стадийном этапе.

Заключение

Работа по непрерывной селекции в условиях производства, несомненно, должна быть перспективной при соблюдении следующих условий:

а) создания технологического фона, обеспечивающего сочетание условий, удовлетворяющих естественные потребности селекционируемого организма в различных его стадийных состояниях, и условий, благоприятствующих выявлению его максимальной продуктивности;

б) применения отбора проб для селекционных работ в момент достижения организмом максимальной мощности развития при сохранении его одновременно в стадийно молодом и наследственно полноценном состоянии.

Получено 12.IX.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лысенко Т. Д. Агробиология. Теоретические основы яровизации, Огиз — Сельхозгиз, 1948.
2. Протодьяконов О. П. Получение лимонной кислоты в условиях производства. Микробиология. VIII, вып. 3—4. 1939.
3. Шапошников В. Н. Техническая микробиология, Изд-во «Советская наука». М., 1948.
4. Deschayes H. et Payré M. Etude d'une technique des sporulations. C. R. Acad. Sci. Paris. 228, No 25, 1949.
5. Deschayes H. et Peyré M. Utilisation de gels de silite pour la mélioration de southes de Penicillium en vue de la production de Penicillin. R. Acad. Sci. Paris, 228, No 26, 1949.
6. Lee S. Fermentation antibiotics. J. Ind. Eng. Chem., No 9, 1868, 1949.
7. Whiffen A. J. and Savage G. M. The relation of nature variation in Penicillium notatum to the yield of Penicillium in surface culture. J. Bact., 53, No 2, 231, 1947.

К СТАТЬЕ В. И. КУДРЯВЦЕВА «О НЕПРЕРЫВНОЙ СЕЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ПРОИЗВОДСТВА»[1]

Е. Н. Кирьялова

Статья В. И. Кудрявцева нашла живой отклик среди советских микробиологов. В ней затрагиваются такие важные вопросы, как селекция и сохранение активности микроорганизмов для бродильных производств. В этом заключается исключительно большое значение данной статьи. Однако следует отметить, что оценка автором современного положения затронутого им вопроса является не совсем правильной. Кудрявцев считает, что используемые в наших бродильных производствах культуры выделены давно. При хранении их в музеях они вырождаются, теряют свои важнейшие производственные качества. Культуры используются на наших заводах в течение короткого времени, после чего заменяются вновь размноженной малоактивной музейной культурой. Между тем как раньше (по словам автора) «заводские дрожжи не сменялись десятками, а может быть и сотнями лет» и «...ни один современный пивоваренный завод не может похвастаться такими результатами». «Отсюда ясно,— пишет по этому поводу В. И. Кудряевцев,— что прежние дрожжи были более сильными, чем современные музейные». Для подтверждения такого заключения автор приводит выдержки из малоубедительного для нас письма владельца Карлсбергского пивоваренного завода, адресованного другому заводчику в 1884 г. Попытки наших микробиологов преодолеть отрицательные стороны работы с музейными культурами (выделение новых рас, сушка, удлинение сроков использования культур на производстве и др.), по мнению автора, не увенчались успехом. «Ни один из этих приемов не затрагивал основной проблемы — улучшения качества производственных микроорганизмов»; заключает В. И. Кудрявцев. Выход из создавшегося положения автор видит в переходе на метод непрерывной селекции организмов из производства. По его мнению, метод этот состоит в том, что заводские закваски надо изготовлять из лучших культур микробов, которые должны периодически повторно выделяться из лучших образцов сброженных соков на каждом заводе или группе заводов с одинаковыми технологическими условиями.

Таково ли действительно существующее у нас в настоящее время положение с селекцией микроорганизмов?

С нашей точки зрения, далеко не так. Бродильная промышленность нашей страны, за годы советской власти достигшая небывалого расцвета, использует микробов, выделенных, изученных и селекционированных нашими советскими микробиологами методом активного отбора наиболее приспособленных форм. Выделенные микроорганизмы хранятся в наших лабораториях — музеях живых культур.

Советская практика полностью подтвердила правильность работы наших ученых-микробиологов.

Не углубляясь в вопросы других бродильных производств, нам бы хотелось в связи со статьей Кудрявцева привести некоторые данные, касающиеся микробиологии виноделия.

Микробиология виноделия росла и развивалась на базе небывалого,

[1] Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по вопросам селекции микроорганизмов.

мощного развития у нас винодельческой промышленности. Советскими учеными (Ховренко, Простосердовым, Фроловым-Багреевым, Герасимовым, Саенко и многими другими) проведена большая работа по селекции культур для различных типов вин с учетом местных условий различных районов страны. Опыт их применения показал, что, наряду с другими мероприятиями, введение в практику селекционированных культур дрожжей является очень важным фактором повышения качества наших советских вин. В дореволюционное время селекционированные культуры дрожжей были достоянием немногих хозяйств; в настоящее время они находят массовое применение.

В связи с огромным ростом производства плодово-ягодных вин подбор дрожжей для сбраживания соков приобретает большое значение для повышения качества выпускаемой продукции. Из лучших образцов высококачественных плодово-ягодных вин различных областей лабораторией микробиологии виноделия Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (Савшинская, Елкина, Кирьялова. Чистович. Чаденко и др.) были выделены, изучены и селекционированы дрожжи для получения вин из различных плодов и ягод: клюквы, брусники, яблок, вишни, смородины, клубники, малины, крыжовника и др.

В настоящее время селекционированные лабораторией культуры дрожжей широко применяются в практике плодово-ягодного виноделия заводов, колхозов, совхозов, опытных станций и других научных и хозяйственных организаций различных районов страны. На этих дрожжах вырабатываются многие сотни тысяч декалитров плодово-ягодных вин при значительном ускорении процесса брожения и повышении качества вин. Спрос на селекционированные культуры дрожжей растет с каждым годом.

Рассылаемые на производство дрожжи хранятся нами в лабораториях в течение длительного времени. С музейными культурами проводится работа по поддержанию их жизнедеятельности, чистоты и активности путем своевременных пересевов на соответствующие среды, систематической проверки их производственной активности и т. д. Наиболее активные культуры рассылаются по требованиям хозяйственных организаций. При тщательном наблюдении за музейными культурами и постоянной работе с ними не наблюдалось такого катастрофического падения активности, о котором пишет Кудрявцев.

Лаборатория микробиологии виноделия и музей живых культур Института имеют большую коллекцию виноградных и плодо-ягодных дрожжей различных сроков хранения от одного до 30 и более лет. Некоторые культуры действительно снизили свою активность, но большинство дрожжей (в том числе и дрожжи более чем 30-летнего хранения) полностью сохранило свои производственные качества. Надо изучать причины изменчивости дрожжей при их длительном хранении в музеях и создавать условия, способствующие сохранению их производственных качеств. Кудрявцев правильно обращает внимание на неудовлетворительный способ хранения производственных культур в музеях.

Но, отмечая недостатки в работе наших музеев, мы не имеем никаких оснований утверждать «нарастающее вырождение в наших музеях производственно ценных культур микроорганизмов». Советские микробиологи располагают многочисленными фактами устойчивости свойств музейных культур при условии, когда в музее ведется работа не только по сохранению ценных производственных качеств микроорганизмов, но также и по усилению их, что возможно только при тесном контакте с производством. Хорошо налаженные лаборатории — музеи живых культур — оправдывают свое назначение, и их роль и значение исключительно велики.

Мощная бродильная промышленность нашей страны предъявляет к

советским микробиологам все возрастающие требования неизмеримо повысить роль микробиологии в разрешении важнейших задач производства и в особенности в улучшении качества выпускаемой продукции. Для достижения этой цели нам надо существенно изменить наши прежние методы и темпы работы, перейти к более быстрым, активным приемам получения и сохранения производственно ценных культур микроорганизмов.

Мы согласны с тт. Косиковым, Чеканом и др., что способ, предложенный Кудрявцевым, по существу ничего принципиально нового для селекции микроорганизмов не дает. В статье Косикова (Микробиология, т. XX, вып. 4, 1951) более полно и принципиально правильно, с нашей точки зрения, поставлены задачи по селекции микроорганизмов, вытекающие из положений Мичурина и Лысенко о способах выведения новых качественно улучшенных сортов растений.

Работа по выделению новых штаммов чистых культур дрожжей для целей плодо-ягодного виноделия может считаться только в основных чертах выполненной. В ряде случаев приходится прибегать к выделению местных культур дрожжей из особо выдающихся по качеству вин производственно важных районов. Таким методом нами были выделены дрожжи для сбраживания соков брусники, северного винограда, вишни, земляники и малины Алтайского края и др., обладающие своими специфическими особенностями.

Главное в работе микробиологов на данном этапе заключается в получении новых производственно эффективных форм и видов микроорганизмов методами направленного воспитания организма под влиянием внешних условий.

Значение влияний внешних условий для сохранения и усиления производственно ценных качеств микроба подтверждается повседневными фактами экспериментальной работы. Например, только изменением частоты пересевов на соответствующие среды можно значительно усилить бродильную способность дрожжей. Культура дрожжей, высушенная в определенных условиях, дает увеличенный выход спирта (по сравнению с исходной) на 30—40%. Прибавление питательных солей (аммиачных и фосфорнокислых) в два-три раза ускоряет брожение ягодных соков из клюквы, брусники, смородины, крыжовника и т. д.

Косиков в своей статье указывает возможные способы направленного воспитания микроорганизмов для целей производства и приводит ряд фактов изменения свойств у дрожжей под влиянием указанных способов.

К предложенным Косиковым способам, с нашей точки зрения, необходимо добавить почти не затронутый в дискуссии, не менее важный фактор направленного изменения — межвидовые взаимоотношения, возникающие в результате совместного культивирования различных видов микроорганизмов. Не следует забывать, что в природных условиях мы обычно имеем дело не с чистыми культурами, а с комплексом микроорганизмов, совместная деятельность которых определяет специфику того или иного процесса. В условиях естественного обитания микроорганизмы вступают в сложные и разнообразные взаимоотношения между собой, под влиянием которых изменяется и природа самого микроорганизма. Взаимоотношения, устанавливающиеся между микроорганизмами, являются мощным фактором их изменчивости и образования новых видов. «Существенной характерной чертой видов, растений, животных и микроорганизмов являются определенные внутривидовые взаимоотношения между индивидуумами», говорит Т. Д. Лысенко.

В ряде своих последних работ Красильников приводит большой фактический материал, свидетельствующий об исключительной важности изучения взаимоотношений микроорганизмов. Ярким примером глубоких изменений, которые происходят под влиянием совместного культивиро-

вания, могут служить приведенные Красильниковым данные, когда способность некоторых микроорганизмов вырабатывать антибиотические вещества проявляется только при условии их совместного культивирования с другими видами, в то время как в чистой культуре у них эта способность отсутствует.

На использовании определенных взаимоотношений между видами основаны способы сохранения активности музейных культур молочнокислых бактерий при условии совместного их культивирования с дрожжами. Способность молочнокислых бактерий продуцировать молочную кислоту сохраняется лучше в присутствии дрожжей, чем в чистой культуре. Производство вина типа херес основано на использовании совместной деятельности различных видов дрожжей. Специфика получения вкусовых и ароматических качеств слабоалкогольного напитка сидра также связана с совместной деятельностью различных видов микроорганизмов. Данные наших исследований говорят о том, что качество вина создается не только дрожжами Saccharomyces ellipsoideus, но и участием других видов дрожжей, всегда присутствующих в соках в значительных количествах. Наличие этих видов дрожжей оказывает в зависимости от условий полезное или вредное влияние на процесс брожения и качество получаемого вина.

В заключение следует еще раз подчеркнуть, что, не отрицая значения селекции микроорганизмов из производства, главным в настоящее время следует считать получение новых производственно ценных форм и видов микроорганизмов методом направленного их воспитания под влиянием соответствующих условий.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии
Ленинград

Получено 20.X.1951 г.

СОВРЕМЕННЫЕ ДАННЫЕ ПО ЭКОЛОГИИ AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

(Обзор)

Н. Н. Сушкина

Существование живых организмов неразрывно связано с окружающей их внешней средой. Их различные функции и жизнедеятельность в целом находятся в зависимости от условий, в которых протекает их развитие. Изучение этой зависимости и раскрытие закономерностей во взаимоотношениях живых организмов с различными факторами внешней среды, включая сюда взаимоотношения и с другими организмами, имеет большое значение для овладения способами изменения организмов в желательном для нас направлении и составляет предмет специальной науки — экологии.

Все особенности, свойственные живым организмам — изменчивость, морфологические и физиологические признаки, распространение и т. д. следует изучать с экологической точки зрения, т. е. в зависимости от воздействия на них тех или иных природных или искусственных факторов.

Изучение высших животных и растений в указанном направлении началось уже очень давно, но для микроорганизмов, в том числе и для почвенных бактерий, этот путь исследования до сих пор является мало разработанным и новым, несмотря на свою чрезвычайно большую перспективность.

Azotobacter chroococcum, открытый всего около 50 лет назад, в качестве «любимца» сельскохозяйственной микробиологии, как его называет Виноградский, с самого начала привлек к себе внимание исследователей, которые своими трудами создали обширную литературу, посвященную этому микроорганизму.

Az. chroococcum изучался в самых разнообразных направлениях, но экологический подход почти полностью отсутствовал на первых этапах исследования этой бактерии. Это сказалось в первую очередь на первоначальном выборе методики жидких сред для работы с Az. chroococcum, а в дальнейшем на общем направлении изучения его распространения в природе, его морфологии, изменчивости и т. д.

Таким образом, число работ по экологии Az. chroococcum до сих пор крайне незначительно. Поэтому настоящая статья ни в какой мере не может считаться обзорной в смысле обобщения слишком небольшого для этой цели литературного материала и разбирает лишь то немногое, что в этом смысле до настоящего времени сделано в указанной области исследования Az. chroococcum.

Как и следовало ожидать, наибольшее число работ экологического направления касается изучения распространения Az. chroococcum в почвах, значительно меньшее охватывает вопросы морфологической изменчивости этого микроорганизма, и лишь очень немногие, почти единичные, исследования подходят к рассмотрению физиологических особенностей Az. chroococcum и, в частности, его способности к азотоусвоению с экологической точки зрения. Укажем в этом смысле на монографию и ряд работ Федорова (1948, 1950, 1951), который, пользуясь «экспериментальным экологическим методом» (Селибер, 1945а, б), выявил различные факторы, влияющие на азотфиксирующую способность этого микроорганизма.

Однако не все работы по распространению Az. chroococcum в природе могут считаться выдержанными в смысле экологического подхода к этому вопросу. В значительной мере это объясняется тем, что экологическая география почвенных микроорганизмов является пока новой отраслью знания, в которой еще отсутствует ясная и четкая формулировка задач исследований подобного направления и не установлена общепринятая терминология, которая исключала бы возможность смешения различными авторами тех или иных понятий и определений.

Нам кажется, что опыт ботаников и зоологов, уже продолжительное время работающих в области экологической географии высших растений и животных, вполне приложим и к исследованию почвенных микроорганизмов, и мы предложили бы воспользоваться им.

Подобно тому как это делают ботаники и зоологи, микробиологи при исследовании распространения микроорганизмов в почвах точно так же должны различать два направления: географическое, когда основное внимание уделяется изучению размещения различных видов микроорганизмов на земной поверхности по различным климатическим зонам, и направление экологическое, задачей которого является установить причинную зависимость между наличием или отсутствием тех или иных микроорганизмов в различных типах почв в пределах одной и той же географической зоны их распространения. Направление работ, объединяющих оба только что указанных направления, должно называться эколого-географическим.

Основным объектом изучения биогеографии служит «ареал вида», т. е. та территория, на которой данный вид распространен.

Область распространения или площадь ареала является вполне определенной для каждого данного вида, но величина ее может крайне варьировать для различных объектов. По аналогии с тем, что наблюдается у высших растений и животных, мы должны предположить, что и для микроорганизмов амплитуда ее колебаний в этом отношении должна быть очень велика: от поверхности почти всей суши до немногих или даже, возможно, только до одной точки на этой поверхности. В первом случае мы будем иметь перед собой микроорганизмы, распространенные крайне широко (так называемые космополиты); во втором — микробы исключительно редкие, эндемичные [1].

Между этими двумя крайностями должны наблюдаться все переходы, но вообще широко распространенных видов, очевидно, должно быть значительно меньше, чем видов с более ограниченным распространением, в связи с тем, что виды не безразлично относятся к внешним условиям, крайне разнородным на земной поверхности.

Таким образом, ареал или область распространения вида является понятием чисто географическим.

Но, ввиду того что условия существования в пределах одного и того же ареала чрезвычайно разнообразны, нельзя представить себе, чтобы индивидуумы того или иного вида занимали сплошь весь свой ареал. По примеру высших растений и животных мы знаем, что нет ни одного вида, который занимал бы свой ареал полностью. Одни виды занимают его своими индивидуумами более, другие менее тесно. В этом отношении в природе наблюдается неограниченное разнообразие в зависимости от того, к каким условиям обитания или, как говорят экологи, к какому биотопу (понимая под этим совокупность сходных местных условий в

[1] Космополитизм не может, конечно, пониматься в прямом смысле слова (Гептнер, 1936, стр. 291). Космополитами обычно называют те виды, которые широко распространены на всех континентах, но в ряде областей и районов могут, конечно, и отсутствовать (Алехин, 1938, стр. 10). Точно так же эндемиками надо считать не только виды, ограниченные всего лишь одним пунктом, но также и все те виды, которые вообще имеют крайне ограниченный ареал (Алехин, 1938, стр. 11—12).

смысле климата, почвы, влажности, растительности и т. п.), более приспособлен данный организм.

Ботаники и зоологи различают в этом смысле виды, широко распространенные в пределах своего ареала и мало разборчивые к условиям своего обитания (эвритопные), и виды, которые, наоборот, очень строги в выборе мест своего обитания (стенотопные) и связаны с достаточно узко ограниченными условиями (например, применительно к почвенным микроорганизмам: известковые, кислые, торфяные, песчаные и другие почвы, различный характер растительности, различная влажность и т. д.).

Первым видам свойственна широкая «экологическая амплитуда», вторым — очень узкая.

Некоторые виды отличаются крайней неразборчивостью по отношению к условиям своего обитания. Это, так сказать, «вездесущие», по выражению Гептнера, формы, способные развиваться почти в любых условиях в пределах своего ареала. Это, так сказать, «экологические космополиты».

Таким образом, если «ареал» является чисто географическим понятием, то биотоп или условия обитания, или просто местообитание вида, представляет собой понятие экологическое. И совершенно необходимо разделять географический вопрос об ареале и вопрос экологической о размещении вида внутри ареала.

Нам кажется, что приведенные представления и терминология, принятые при изучении эколого-географического распространения высших растений и животных, в полной мере подходят и к микроорганизмам. Они должны быть усвоены микробиологами, работающими по распространению микробов в почвах в целях внесения четкости и единообразия в эту новую область исследования.

Попробуем применить все вышесказанное к интересующему нас объекту — Az. chroococcum.

Вопросу о распространении этого микроорганизма в почвах посвящена огромная литература. Мы не будем подробно останавливаться на ней, так как исчерпывающий список ее (до 1949 г.) с соответствующим критическим разбором приведен в недавно вышедшей нашей книге «Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР» (Сушкина, 1949б).

Анализ этой литературы, а также наши собственные исследования приводят к заключению о чрезвычайно широком, почти повсеместном географическом распространении Az. chroococcum. Таким образом, площадь ареала Az. chroococcum чрезвычайно велика, и он может быть назван в этом смысле географическим космополитом. Но, кроме чисто географического вопроса об ареале Az. chroococcum наша книга стремится объяснить размещение этого микроорганизма внутри его ареала с экологической точки зрения.

Работы, предшествующие появлению нашей книги, за немногими исключениями, тоже в большей или меньшей степени отличались экологическим подходом к этому вопросу. Но, как мы уже указывали в нашей книге, ошибочным было стремление прежних авторов увязать возможность существования Az. chroococcum в почвах с одним каким-либо фактором (величина pH, бедность почвы фосфорной кислотой, гумусом и т. д.). При таком подходе забывалось, что условия обитания, местообитание или биотоп вида подразумевают совокупность разнообразных факторов (климат, почва, растительность и т. д.). Следовательно в большинстве случаев комплекс условий определяет возможность или невозможность развития данного живого организма в почве.

Но если при изучении экологии высших растений и животных было легко объединить комплекс условий в представление о тундре, тайге, лесе, перелесках, опушках леса, степи, пустыне, и т. д., то в случае

микроорганизмов, населяющих почвы, этот вопрос представлял значительные затруднения.

Лишь после долгих исканий мы пришли к выводу, что в данном случае почвообразовательный процесс, являясь отображением многочисленных и разнообразных факторов, его обуславливающих (условия рельефа и гидрологии, характер растительного покрова, физико-химические признаки и свойства почв и т. д.), влияющих одновременно и на развитие Az. chroococcum в почвах, определяет в целом те экологические условия существования Az. chroococcum, от которых зависит размещение этого микроорганизма по отдельным типам целинных почв внутри его ареала.

Иногда процесс почвообразования при своем развитии ведет к возникновению почв, которые не пригодны в качестве субстрата для развития в них Az. chroococcum.

К числу таких губительных для этого микроорганизма процессов следует отнести прежде всего подзолообразование и осолонение, а затем остепнение, т. е. превращение луговых почв в степные черноземы, в каштановые почвы, бурые и сероземные. Во всех этих случаях Az. chroococcum исчезает из почв.

Но, наряду с формами почвообразовательного процесса, не благоприятными для Az. chroococcum, существуют и такие, которые не препятствуют его развитию. К числу их относятся дерново-луговой процесс, процесс осолонцевания и, в известных пределах, процесс засоления и болотный. Таким образом, Az. chroococcum встречается в основном в «луговых» гидроморфных почвах, формирующихся в луговом ряду в условиях низинного залегания, под влиянием грунтовых вод или повышенного поверхностного увлажнения и под луговой или лугово-солончаковой растительностью. И он отсутствует в «степных» и «пустынных» почвах степного типа почвообразования, протекающего в условиях плакорного залегания почв, при недостаточном содержании влаги в почвах под степным, пустынным или смешанным пустынно-степным растительным покровом.

Мы не встречаем Az. chroococcum в целинных почвах: каштановых, бурых, в сероземах, в степных солонцах и в громадном большинстве случаев в черноземах. Но азотобактер присутствует в луговых солонцах, в луговых почвах как черноземной зоны, так и более южных широт, нередко наблюдается в солончаках, в неразвитых почвах на осадочных породах и т. д.

Из сказанного ясно, что Az. chroococcum находит подходящие для себя условия развития лишь в очень ограниченном числе целинных почв. Он очень строг в выборе мест своего обитания и встречается в условиях только вполне определенных биотопов.

Большие площади ареала этого микроорганизма совершенно лишены его. Очень часто он встречается в пределах своего ареала лишь небольшими островками там, где он находит почвы, подходящие для своего обитания.

Подводя итог, мы должны сказать, что географически Az. chroococcum распространен чрезвычайно широко, почти повсеместно и занимает, следовательно, очень широкий ареал. В этом смысле его можно отнести к географически космополитичным видам

Что же касается его размещения внутри ареала, то он приурочен к определенным узким условиям обитания, т. е. встречается лишь в очень ограниченном типе целинных почв и является с экологической точки зрения типично стенотопным видом.

Из работ по распространению азотобактера в почвах, появившихся после нашей книги, укажем на статью Белякова (1949), Вернера (1951), Горбунова (1951), Танатина (1951) и др., которые дают интересные материалы по эколого-географическому распределению азотобактера в

целинных почвах, вполне согласующиеся с нашим представлением об Az. chroococcum как о типично стенотопном виде.

* * *

Переходя к рассмотрению работ по морофогии Az. chroococcum, мы должны указать, что чисто морфологическое направление исследования этого микроорганизма подразумевает изучение строения Az. chroococcum в его статистическом состоянии.

Но существует и другое направление — эколого-морфологическое, которое подчеркивает значение внешних условий не только для возникновения, но и для сохранения «нормальных» морфологических признаков вида.

Совершенно очевидно, что «нормальная» морфология может сохраняться и поддерживаться лишь в условиях, также соответствующих «нормальным» для существования данного вида в природе.

Микробиологи не обращали большого внимания на создание естественной обстановки для развития тех бактериальных видов, морфологию которых они изучали. Этот вопрос казался второстепенным, что, может быть, и не было лишено основания для исследований в области промышленной микробиологии, где экспериментатор работает с селекционированными видами, приспособленными к той или иной, им самим выбранной искусственной обстановке.

Иначе дело обстоит при изучении видов, образующих естественную микрофлору почвы.

Вполне понятно, что при исследовании морфологии микробов, живущих в естественных условиях, часто упускавшийся экологический подход был совершенно необходим.

Тем не менее первые работы по морфологии Az. chroococcum — Бейеринка (Bejerinck, 1901) Кржеменевского (Krzemieniewski, 1908), Пражмовского (Prazmowski, 1912a, b, c), Омелянского (1917, 1923), а в дальнейшем Лёниса и Смита (Löhnis and Smith, 1916, 1923), Нимайера (Niemayer, 1924), Петченко (1930), де-Регель (Regel S. de, 1932) — ни в какой степени не удовлетворяли указанному принципу, начиная хотя бы с того, что авторы их выращивали Az. chroococcum на жидких средах, ничего общего не имеющих с условиями обитания микроорганизма в почвах.

Но и очень тщательные и очень ценные работы Красильникова (1931) и Бачинской (1935), уточнивших многие моменты в развитии Az. chroococcum, до них спорные и неясные, все же были проведены при помощи методики, подвергшейся впоследствии критике со стороны Виноградского как неудовлетворительной с экологической точки зрения (1949, XVI) [2].

Как Красильников, так и Бачинская работали с коллекционными культурами, которые более или менее долгое время выращивались в лаборатории на средах с маннитом. Для дальнейших наблюдений над Az. chroococcum Бачинской применялись 10 сред, случайно выбранных из рецептов, которыми пользовалась общая бактериология. Среди них находились пивное сусло, отвар льняной соломы, фасолевая мука, мясной бульон и др., не имеющие никакого отношения к питательному режиму Az. chroococcum в почве. Кроме того, само наблюдение над развитием микроорганизма проводилось для отдельных изолированных клеток в искусственной обстановке висячей капли.

Такая методика, как будет явствовать из дальнейшего изложения,

---

[2] При ссылке на работы С. Н. Виноградского, включенные в сборник его трудов 1949 г., римские цифры указывают номера тех статей из этого сборника, в которых данный вопрос затрагивался.

не могла служить, по мнению Виноградского, подходящим фоном для изучения «нормального» цикла развития Az. chroococcum.

Начиная с 1926 г., во всех своих работах, посвященных изучению азотобактера, Виноградский систематически и неуклонно подчеркивает необходимость внедрения экологического подхода («principe écologique» в подлиннике) в методику исследования этого микроорганизма. Особенно подробно он останавливается на этом вопросе в статье XVI (1949).

В чем же состоит сущность этого экологического подхода и как он должен применяться?

Обобщая высказывания Виноградского по этому поводу, разбросанные по его отдельным работам, можно сказать, что азотобактер, согласно этому принципу, должен культивироваться и изучаться в условиях, по возможности близких к почвенным, от которых перед этим его не следует отрывать на продолжительные сроки.

Поэтому для того, чтобы воспроизвести «нормальную» морфологию вида, его «экологическую» морфологию, как говорит Виноградский (1949, предисловие), необходимо принципиально избегать работать с коллекционными культурами и экспериментировать исключительно со штаммами, свежевыделенными из почвы при помощи возможно короткого и прямого метода. В дальнейшем же столь же необходимо культивировать эти штаммы в условиях, которые в основном соответствовали бы природным.

Совершенно очевидно, что чем больше будет отличаться лабораторный режим микроорганизма от его естественных условий обитания в почве, тем скорее он отклонится от своего «нормального» цикла развития, утратит свою «нормальную» морфологию и превратится в искусственный вариант. Единственным средством предотвратить такое превращение является создание в лаборатории, насколько это возможно, условий, сходных с природными. Для этого Виноградский прежде всего рекомендовал окончательно оставить старую методику жидких сред и заменить ее для того времени еще «новым», предложенным им методом выращивания Az. chroococcum на пластинках из кремнекислого геля (наша «микробиологическая почва», по его выражению) и на почвенных пластинках (1949, предисловие и статьи I—III, V—IX, XI, XIII, XIV, XVI).

По сравнению с жидкими культурами это приближало опыты к природным условиям, но все же полного воспроизведения естественной обстановки далеко еще не достигалось. Дальнейшим шагом в этом направлении Виноградский (1949, предисловие и XIV) считает предложенную им замену условного энергетического вещества — маннита и глюкозы, старых рецептов питательных сред для Az. chroococcum,— веществами, которые используются микроорганизмом в природных условиях.

Правда, говорит Виноградский (1949, XI), растительные остатки вносят в почву небольшое количество различных сахаров и крахмалов, но последние быстро разлагаются в почве и исчезают из нее раньше, чем Az. chroococcum сможет ими завладеть.

Az. chroococcum размножается гораздо медленнее, чем многочисленные бациллярные формы, присутствующие в почве, и последние при наличии в среде доступного азота всегда успевают перехватить у него пищу (1949, XIII).

Что касается главных составных частей растений — целлюлозы, гемицеллюлоз, пентозанов, лигнина, то Az. chroococcum не в состоянии их утилизировать. Этот, так сказать, «костяк» растений разрушается лишь в присутствии достаточного количества связанного азота видами, резко отличающимися от азотобактера (Виноградский, 1949, XI).

Но пока в почве имеется связанный азот, первичные продукты распада указанных веществ тоже захватываются бациллярными формами,

всегда забивающими более «медлительного» азотобактера. Однако, как только сравнительно ничтожное количество азота, которое может содержаться в почве, истощится, наступают условия, наиболее благоприятные для развития Az. chroococcum, не нуждающегося в азоте и способного фиксировать его из воздуха.

Вследствие недостатка доступного азота все остальные виды теперь исключены из соревнования с этим микроорганизмом, который, так сказать, берет «реванш» и может в этих условиях завладеть всем питательным веществом и начать свободно размножаться в почве (Виноградский, 1949, XIII).

Таким образом, Виноградский считает, что именно конечные продукты разложения растительных остатков являются нормальными питательными веществами для Az. chroococcum. Это будут органические вещества простого строения — спирты и кислоты жирного ряда с 2—4 атомами углерода, получающиеся при самых обычных видах брожений, происходящих при распаде отмерших растений. Из спиртов встречаются в почве: этиловый и нормальный бутиловый, а из кислот жирного ряда — соли кислот уксусной, масляной, пропионовой и бензойной.

Все названные вещества представляют собой, по мнению Виноградского, соединения несравненно меньшей питательной ценности, чем сахара или маннит. Но именно эти «плохие»[3], по выражению Виноградского (1949, XIV и XVI), питательные вещества используются Az. chroococcum в природных условиях, где этот микроорганизм получает возможность свободно размножаться лишь к концу процесса разложения растительных остатков в почве, когда почва уже истощена в смысле содержания ассимилируемого азота, но зато обогащена продуктами брожений, трудно доступными для огромного большинства микроорганизмов в условиях недостатка связанного азота.

Исходя из приведенных соображений, Виноградский предлагает для изучения «нормальной» естественной морфологии Az. chroococcum такой, какой она наблюдается в природных условиях существования этого микроорганизма в почве, прибавлять в искусственные среды именно эти «второсортные» вещества в качестве энергетических.

Рекомендованные Виноградским (1949, предисловие, и XIV и XVI) рецепты оказались гораздо лучше прежних. Культуры микроба вырастали в этом случае более типичными и менее загрязненными посторонними видами.

Морфологические свойства всегда сохранялись при этом «нормальными», и культуры отличались под микроскопом своей однородностью, что не наблюдалось при культивировании с сахарами. В последнем случае «нормальное» развитие нарушалось с самого начала. Первоначальная однородность быстро утрачивалась, и клетки, различные по форме и величине, давали весьма разнородную картину. Появлялось множество уклоняющихся форм. Коллекционные культуры на средах с сахаром всегда содержали их в большом количестве.

Следует отметить, кроме того, что в результате культивирования Az. chroococcum на средах с сахарами у него всегда наблюдается постепенное ослабление способности к образованию цист.

Так же как при образовании спор у бацилл, нормальный цикл развития Az. chroococcum должен закончиться, по Виноградскому (1949, XIV), общим инцистированием. Это явление наблюдается регулярно у штаммов, свежевыделенных и культивируемых на средах, состав кото-

[3] Виноградский называет их «плохими», так как при культивировании на таких питательных веществах снижается интенсивность размножения азотобактера (многие сильно подщелачивают среду), в силу чего микроб оказывается не в состоянии использовать весь фиксированный им азот и часть его выделяет обратно. Это никогда не наблюдается в культурах с сахарами или маннитом, когда весь фиксированный азот идет на построение клеточного белка азотобактера (1949, XII).

рых был только что отмечен. Но далеко не так обстоит дело со штаммами, сохраняющимися в течение долгих генераций на средах, богатых сахаром. В этом случае многие штаммы полностью утрачивают способность к образованию цист.

Последнее серьезным образом «калечит» организм, так как способность к инцистированию определяет сопротивляемость Az. chroococcum к неблагоприятным условиям. Только клетки, превратившиеся в цисты, достаточно устойчивы к высушиванию, в то время как вегетативные клетки в подобных условиях быстро погибают (Виноградский, 1949, предисловие и XVI).

Искусственное культивирование на средах с прибавлением сахара, а часто также и азотсодержащих питательных веществ расшатывает природные свойства азотобактера, и он начинает давать настолько разнообразные формы, что становится затруднительным восстановить его «нормальное» развитие и воспроизвести его «нормальную» морфологию.

Поэтому, по мнению Виноградского (1949, XIV), обычно применяемые нами среды с сахарами и маннитом с экологической точки зрения никак не могут считаться пригодными для культивирования и изучения морфологии Az. chroococcum. Штаммы, долгое время выращивавшиеся в лабораториях на таких средах, не способны ни воспроизводить «нормальную» морфологию микроорганизма, ни даже возвращаться к ней.

Азотобактер, привыкший в почве к более скудному питанию, «перекармливается» на них, по выражению Виноградского. Это приводит к «гипертрофии» клеток, часто превращающихся в массивные уродливые формы, и кончается нарушением «нормального» цикла развития микроорганизма (1949, предисловие, XIII и XIV).

В результате такого культивирования на средах, снабженных «хорошими питательными веществами», штаммы превращаются, как говорит Виноградский (1949, предисловие, XIV и XVI), в «инвалидов» и «калек», обнаруживающих несомненные признаки дегенерации, и поэтому ни в какой мере не отражают больше свойств «почвенного» (1949, предисловие и XIV) азотобактера.

Таким образом, чистые культуры долгое время сохранявшиеся в лабораториях на средах с сахарами или маннитом, непригодны для проведения морфологических исследований азотобактера.

Для этих целей надо пользоваться штаммами, полученными прямо из почвы и не культивировавшимися на средах с сахарами или маннитом.

* * *

Вопрос об экологической изменчивости Az. chroococcum, несомненно, представляет большой интерес, но, несмотря на это, мы имеем лишь единичные работы, в которых удалось установить связь между изменением морфологических и физиологических особенностей этого микроорганизма и воздействием на него внешних природных факторов.

Объяснение этому, как нам кажется, можно найти в следующем.

Индивидуальная изменчивость Az. chroococcum чрезвычайно велика. Она проявляется в строении, форме, величине клеток, в способе размножения и т. д. По наблюдениям Красильникова (1943), Бачинской (1935) и др., этот микроорганизм на определенных средах и в определенном возрасте может давать до 50 различных типов клеток. На некоторых средах, кроме того, он способен изменять свой обычный способ размножения делением и переходить к почкованию.

Но, несмотря на такой резко выраженный полиморфизм, Az. chroococcum в то же время отличается среди других бактерий не менее резко и своей стойкостью в смысле изменения присущих ему признаков и образования новых рас. Однако известно, что в результате культивиро-

вания на средах, содержащих связанный азот, были получены варианты Az. chroococcum, не способные больше фиксировать азот и отличающиеся от исходного штамма устойчивыми морфологическими изменениями (Рубенчик и Ройзин, 1936; Dooren de Yong, 1938, и Stumbo and Gainey, 1938).

Происходит ли что-либо подобное в природных условиях, пока не ясно.

Наблюдения Виноградского (1949, VII), проведенные в поле, говорят о том, что почва фиксирует азот лишь при условии недостатка в связанном азоте, в то время как избыток последнего ослабляет эту способность и под конец приводит к ее полной утрате.

Но Виноградский (1949, VII, XIII) склонен это объяснять не превращением типичной формы Az. chroococcum под воздействием избыточных количеств доступного азота в почве в нефиксирующий вариант, а простым вымиранием микроорганизма под влиянием неблагоприятных для его развития условий существования. В присутствии связанного азота Az. chroococcum как медленно размножающийся микроорганизм не может выдержать конкуренции с многочисленными микробами почвы и вытесняется ими.

Ничтожной дозы прибавленного азота — 5 частей на 100 000 весовых частей почвы — достаточно, чтобы замедлить рост Az. chroococcum и снизить его количество до $^1/_{25}$ того, что было бы без внесения азота в испытуемую почву; бо́льшие же дозы полностью подавляют развитие этого азотфиксатора (Виноградский, 1949, XIII).

Таким образом, Az. chroococcum может удерживаться только в почвах, в которых доступный азот встречается в ничтожных количествах или совершенно отсутствует, и поэтому, по Виноградскому, любые азотные удобрения должны оказывать вредное действие на его развитие в поле. Регулярное и обильное внесение их ведет к уменьшению количества азотобактера и даже к полному его исчезновению из почвы. По Виноградскому (1949, XIII), в почвах, удобренных 80 или более фунтами минерального азота, азотобактер плохо или вовсе не развивается даже в присутствии фосфатов и карбоната кальция.

Среди других факторов, воздействие которых на Az. chroococcum возможно в природных условиях, температурный фактор как таковой, видимо, большой роли не играет. Во всяком случае экспериментальных данных, противоречащих этому предположению, мы не знаем. В книге же Мишустина (1947) встречается указание, что для всех изучавшихся его сотрудницей М. Г. Еникеевой культур этого микроорганизма, вне зависимости от их географического происхождения, температурный оптимум в лабораторных условиях оставался одинаковым.

Что касается солевого режима почв, то последний несомненно оказывает большое влияние на Az. chroococcum.

Так, солеустойчивый вариант этого микроорганизма под названием Az. nigricans был выделен Красильниковым («Определитель бактерий и актиномицетов», 1950, стр. 506) из вторично засоленного залежного серозема, бывшего раньше под люцерной (Узбекистан, Бетпак-Дала).

Другой вариант описан Сушкиной (1948а, 1949а) в качестве солеустойчивой разновидности Az. chroococcum (Az. galophilum, Suschkina по Красильникову, «Определитель бактерий и актиномицетов» 1950, стр. 506). Он был обнаружен на территории Валуйской опытной станции (Саратовская обл., Нижняя Волга) во вторично засоленном солонцезалежи и во вторичном солончаке, бывших ранее под культурой. После этого Az. galophilum был найден три раза. Первый раз в 1950 г. студентом Томского университета Андросовым во вторично засоленной почве Барабинской степи (данные еще не опубликованы); во второй — студенткой Московского университета Л. А. Гиркиной в 3 солончаковатых почвах и 2 солончаках Кура-Араксинской низменности в Западной

Ширвани (дипломная работа 1950 г.). И, наконец, в третий раз этот вид азотобактера был выделен в 1951 г. студентом того же университета О. Широковым из коркового вторично засоленного солонца, взятого в колхозе «Красный Маяк» (Воронежская обл., Панинский район) и бывшего под выпасом.

Az. galophilum характеризуется определенными устойчивыми культуральными и морфологическими признаками, отличающими его от типичного Az. chroococcum (между прочим способностью вырабатывать пигмент, диффундирующий в среду).

Более подробное исследование этого нового вида азотобактера коснулось изучения его физиологических особенностей (Сушкина, 1948б). В этом смысле удалось установить, что выделенный микроорганизм предпочитает для своего развития засоленные среды. Он наилучшим образом развивается и выживает наиболее продолжительное время в растворах, содержащих 1% хлористого натрия. В тех же условиях азотоусвоение идет наиболее энергично. Осмотическое давление в его клетках достигает 10—12 атм., в то время как для типичного Az. chroococcum оно не превышает 2,49 атм.

Таким образом, в случае Az. galophilum изменения, в результате которых возникла эта новая форма азотобактера, коснулись не только внешних признаков, но и более глубоко отразились на свойствах живого вещества микроба.

Az. chroococcum, известный по литературным данным как микроорганизм, чрезвычайно выносливый по отношению к высоким концентрациям солей, не вымирает в почвах под влиянием засоления, а приспосабливается к новым условиям своего существования (к новому биотопу) и образует солеустойчивые расы.

На основании приведенных данных мы можем заключить, что тот или иной солевой режим почв является пока единственным прочно установленным экологическим фактором, на который Az. chroococcum реагирует в природных условиях образованием устойчивых, местных экотипов.

Другим фактором, которому начинают в последнее время придавать все большее и большее значение, является то воздействие, которое оказывает на Az. chroococcum корневая система различных растений.

Петренко (1949) считает, что ризосфера различных изучавшихся им культурных растений характеризуется присутствием особых рас Az. chroococcum, приспособившихся к существованию на корнях того или иного растения.

У Трибунской (1950) мы также находим указание, что корневая система различных деревьев оказывает воздействие на Az. chroococcum и приводит к изменению его свойств, например, характера пигментации.

О специфичности азотобактера для различных сельскохозяйственных культур говорится в работе Петросяна и Киракосяна (1949). Зиновьева и Савченко-Бельская (1949) указывают на способность азотобактера образовывать местные штаммы.

В качестве материалов, в равной мере относящихся к экологической изменчивости Az. chroococcum, приведем данные, имеющиеся в работах прежних авторов, которые, однако, к сожалению, не были ими увязаны с воздействием на этот микроорганизм каких-либо определенных природных факторов.

Укажем на исследования Липмана и Бургесса (Lipman a. Burgess, 1915) и Омелянского и Солунсковой (1915). Липман и Бургесс из различных почв выделили 20, Омелянский и Солунскова — 17 штаммов Az. chroococcum.

Штаммы культурально отличались друг от друга формой колоний и характером пигментации. Разница в морфологических особенностях

была выражена слабее. Она сводилась к различной форме и расположению клеток, но эти признаки не были резко выражены.

Что касается энергии азотоусвоения, то Липман и Бургесс различают в этом смысле выделенные ими штаммы между собой; Омелянский же для своих штаммов не считает эту разницу существенной.

Отметим, что Омелянский вообще воздерживается от оценки полученных им данных, находя их недостаточно убедительными.

Подытоживая в целом все известные нам еще весьма скудные данные по экологии Az. chroococcum, касающиеся как его распространения в почвах, так и изменчивости его морфологических и физиологических признаков, мы видим, что с этой точки зрения этот микроорганизм является еще очень мало исследованным.

Весьма возможно, что причина этого лежит, как мы уже говорили, в том, что Az. chroococcum отличается чрезвычайно резко выраженным консерватизмом наследственности и поэтому лишь с большим трудом поддается воздействию внешних условий.

Кроме того необходимо учесть, что не всегда изменение мест обитания микроорганизма является изменением условий его существования. Об этом имеются ценные указания в трудах Лысенко (1948), который говорит: «Нужно спросить у растения, а не просто гадать «как нам кажется» является ли перенос его в другую среду обитания и переносом его в другие «условия существования». Могут быть большие различия в среде, которые оказываются отнюдь не существенными для растения».

Следует указать также на отсутствие достаточно тонкой методики, которая позволяла бы обнаруживать отличительные особенности возникающих в природе вариантов этого микроба.

Не лишено вероятия, что Az. chroococcum относится к той группе микроорганизмов, у которых, как нас убеждает в этом опыт, физиологические и биохимические процессы могут сильно варьировать, в то время как комплекс морфологических признаков, характеризующих данный вид, может сохраняться полностью или в большей или меньшей степени.

Для такого случая чрезвычайно перспективной нам представляется методика, недавно разработанная в лаборатории Красильникова (1950, 1951), в основу которой положен принцип межвидового антагонизма.

Весьма вероятно, что, применяя ее в тех случаях, когда не удается уловить ясно выраженных морфологических различий между отдельными штаммами Az. chroococcum, мы все же сможем при ее помощи устанавливать местные экотипы этого микроорганизма на основании изучения их антагонистических взаимоотношений.

Для каждого работающего с азотобактером необходимость выработки новой методики для исследования экологической изменчивости этого азотфиксатора совершенно очевидна.

Нельзя предположить, чтобы микроорганизм никак не реагировал на то разнообразие почвенных условий, в которых он встречается в природе. Весьма вероятно, что из-за отсутствия надлежащих приемов мы лишь проходили мимо подобных изменений, не замечая их.

Овладение необходимой для этих целей более совершенной методикой даст возможность фиксировать то, что, может быть, сейчас ускользает от нас.

И тогда для дальнейших исследований Az. chroococcum явится возможным разрешить проблему экологической изменчивости этого микроорганизма, чрезвычайно интересную не только теоретически, но имеющую также важное практическое значение для правильного и эффективного использования азотогена.

Получено 16.III.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

Алехин В. В. География растений. Учпедгиз, Москва, 328 стр. 1938.

Бачинская А. А. О строении и развитии азотобактера (Azotobacter). Тр. Ин-та с.-х. микроб. Всес. акад. с.-х. наук им. Ленина, **6**, вып. 1, 3, 1935.

Беляков Е. В. Распространение азотобактера в целинных и культурных почвах пустынной и степной зон Центрального Казахстана. Изв. АН Казахской ССР, Сер. освоения пустынь, № 75, вып. 1, 49, 1949.

Вернер А. Р. Еще раз о солеустойчивости азотобактера. Микробиология, XX, 400, 1951.

Виноградский С. Microbiologie du sol. Problèmes et méthodes. Cinquante ans de recherches. Huitième partie. Les Azotobacter, 1949.
Avant-propos. p. 587, 1945.
I. Sur une méthode pour apprécier le pouvoir fixateur des terres. C. R. Ac. Sci., **180**, p. 661, 1925.
II. Sur le pouvir fixateur des terres. C. R. Ac. Sci. **182**, p. 605, 1926.
III. Sur les cultures spontanées des microbes fixateurs. C. R. Ac. Sci., 182, p. 609, 1926.
V. Etudes sur la Microbiologie du sol. Deuxième mémoire. Sur les fixateurs d'azote. Ann. Inst. Pasteur, **40**, p. 613, 1926.
VI. Sur la fixatior atmosphérique par les microbes du sol. Conférence faite au Congrès de l'Azote Synthétique à Montpellier, p. 647, 1927.
VII. Sur le pouvoir fixateur des terres. Conférence présentée au Septième Congrès de Chimie Industrielle, p. 660, 1927.
VIII. Sur l'application agronomique d'une épreuve microbiologique. C. R. Acad. Sci. **161**, p. 671, 1928.
IX. Etudes sur la Microbiologie du sol. Troisième mémoire. Sur le pouvoir fixateur des terres. En collaboration avec M-me Ziemiecka. Ann. Inst. Pasteur. **42**, p 674, 1928.
XI. L'état actuel du problème de la fixation d'azote moléculaire et ses récents progrès. C. R. Ac. agron., **16**, p. 694, 1930.
XII. Etudes sur la Microbiologie du sol. Sixième mémoire. Sur la synthèse de l'ammoniac par les Azotobacter du sol. Ann. Inst. Pasteur, **48**, p. 698, 1932.
XIII. The Method in Soil Microbiology as illustrated by Studies on Azotobacter and Nitrifying Organisms. Soil Science, **40**, p. 712, 1935.
XIV. Nouvelles recherches des Azotobacter. C. R. Ac. Sci. **203**, p. 730, 1936.
XVI. Etudes sur la Microbiologie du sol. Neuvième mémoire. Sur la Morphologie et Oecologie des Azotobacter. Ann. Inst. Pasteur, **60**, 3 pl., p. 746, 1938.

Горбунов К. В. Распространение Azotobacter chroococcum в водоемах и почвах дельты Волги и его значение как фактора продуктивности. Микробиология, XX, вып. 3, 231, 1951.

Зиновьева Х. Г. и Савченко-Бельская О. Т. Некоторые данные о местных штаммах азотобактера. Микроб. журн. (Киев), II, вып. 3, 3, 1949.

Гептнер В. Г. Общая зоогеография. Биомедгиз, Москва — Ленинград, 548 стр., 1936.

Красильников Н. А. История развития Azotobacter в связи с проблемой полиморфизма. Микроб. журн., 12, вып. 1, 16, 1931.

Красильников Н. А. Об индивидуальной изменчивости у микроорганизмов. Журн. общ. биологии, **4**, № 1, 15, 1943.

Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, 830 стр., 1950.

Красильников Н. А. Актиномицеты — антагонисты и антибиотические вещества. Изд. АН СССР М.— Л., 1950.

Красильников Н. А. О внутри- и межвидовом антагонизме у микроорганизмов. ДАН СССР, **77**, № 1, 117, 1951.

Лысенко Т. Д. Агробиология. Изд. 4-е доп., Сельхозгиз, 1948.

Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. Изд-во АН СССР, Москва — Ленинград, 1947.

Омелянский В. Recherches morphologiques et cytologiques sur les bactéries fixatrices d'azote. Arch. Sci. Biol. Publ. Inst. Imp. Méd. Exp. Petrograd (Архив биол. наук), **20**, № 1—2, p. 24, 1917.

Омелянский В. Л. Связывание атмосферного азота почвенными бактериями. Петроград, 186 стр., 1923.

Омелянский В. Л. и Солунскова М. Sur la distribution des bactéries azotofixatrices dans les sols russes. Arch. Sci. Biol. publ. Inst. Méd. Exp. Petrograd. (Архив биол. наук) **18**, No. 5, p. 459, 1915.

Петренко Г. Я. Производственное значение препаратов азотобактера. Вопросы агротехники в нечерноземной полосе. Тр. Н.-иссл. ин-та зернового хозяйства нечерноземной полосы Союза ССР, вып. 14, 45, 1949.

Петросян А. П. и Киракосян А. В. Специфичность азотобактера для различных сельскохозяйственных культур. Микроб. сб. (АН Арм. ССР) вып. 4, 25, 1949.

Петченко. Über die Biologie, die Morphologie und den Entwicklungszyklus von Mikroorganismen aus der Azotobactergruppe. Ztbl. Bakt. (Abt. 2), 80, 161, 1930.
Рубенчик Л. И. и Ройзин М. Б. Влияние связанного азота на Azotobacter. Тр. Научной конференции по бактериологии и изменчивости микробов в 1936 г., 165, 1936.
Селибер Г. Л. Задачи, принципы и методы экологической микробиологии. Журн. общ. биологии, 6, № 4, 259, 1945а.
Селибер Г. Л. Принципы экспериментального метода исследования и экологическая микробиология. Природа, № 2, 43, 1945б.
Сушкина Н. Н. Азотобактер засоленных почв, его распространение и характеристика. Сообщ. 1. Вестн. МГУ, № 7, 105, 1948а.
Сушкина Н. Н. Фиксация азота и биологические особенности азотобактера, выделенного из засолившихся почв Нижней Волги. Сообщ. II. Вестн. МГУ, № 10, 195, 1948б.
Сушкина Н. Н. Систематическое положение «солеустойчивого» азотобактера. Сообщ. III. Вестн. МГУ, № 6, 123, 1949а.
Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. Изд-во АН СССР, Москва — Ленинград, 1949б.
Танатин Б. Я. О наличии азотобактера в почвах Туркестанского хребта. Микробиология, XX, вып. 6, 506, 1951.
Трибунская А. Я. Применение азотобактериальных удобрений при выращивании сеянцев древесных растений. Сборн. по лесоразведению под ред. Власова, Гослесбумиздат, стр. 145, 1950.
Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Огиз — Сельхозгиз, Москва, 442 стр. 1948.
Федоров М. В. Влияние отдельных питательных элементов на фиксацию азота атмосферы азотобактером. ДАН СССР, нов. серия, 72, № 1, 157, 1950.
Федоров М. В. Физиологические особенности первых этапов процесса фиксации молекулярного азота азотобактером. Микробиология, XX, вып. 3, 223, 1951.
Beijerinck M. W. Über oligonitrophile Mikroben. Ztbl. Bakt., II. Abt., 561, 1901.
Dooren de Yong L. E. D. Das Verhalten von Azotobacter chroococcum unter abnormen Lebensbedingungen. Arch. Mikrobiol., 9, H. 2, 232, 1938.
Krzemieniewski S. Untersuchungen über Azotobacter chroococcum Beijer. Anz. Akad. Wiss., Math.-Nat. Kl., Reihe B, S. 929—1051, 1908; Zbl. Bakt., II. Abt., 23, 161, 1909.
Lipman C. B. and Burgess P. S. Studies on nitrogen fixation and Azotobacter forms in soils of fordign countries. Zbl. Bakt., II. Abt., 14, 481, 1915.
Löhnis F. and Smith N. R. Life cycle of the Bacteria (Preliminary Communication). Journ. Agr. Res., 6, 675, 1916, Ref., Ztbl. Bakt., II. Abt., 51, 367, 1920.
Löhnis F. and Smith N. R. Studies upon the life cycles of the Bacteria. Par. II. Life History of Azotobacter. Journ. Agr. Res., 23, No. 6. 401, 1923.
Niemayer L. Azotobacterstudien. II. Bot. Archiv, 7, S. 363, 1924.
Prazmowski A. Die Entwicklungsgeschichte, Morphologie und Cytologie des Azotobacter chroococcum Beijerinck. Ztbl. Bakt., II. Abt., 33, 202, 1912a.
Prazmowski A. Azotobacterstudien. I. Morphologie und Cytologie. Anz. Akad. Wiss. Krakau, Math.-Nat. Kl., Reihe B, 2, 87, 1912. Ref.: Ztbl. Bakteriol. II. Abt., 33, S. 112—308. 1912b.
Prazmowski A. Azotobacterstudien. II. Physiologie und Biologie. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. Juillet, 1912c.
Regel (Sophie de). Entwicklungsgang von Azotobacter chroococcum. Zbl. Bakt., II. Abt., 86, 44, 1932.
Stumbo C. and Gainey P. An apparent induced loss of nitrogenfixing ability of Azotobacter. Journ. Agr. Res., 57, No. 3, 217, 1938.

РОЛЬ РУССКИХ УЧЕНЫХ В ОТКРЫТИИ И РАЗРАБОТКЕ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА БОРЬБЫ С ВРЕДНЫМИ ГРЫЗУНАМИ

М. И. Прохоров

Приоритет в открытии и разработке бактериологического метода борьбы с вредными грызунами принадлежит русской науке.

Между тем в нашей литературе приоритет этого метода неправильно приписывается немцу Леффлеру.

Так, например, Антоновский [1] без всякого на то основания сообщает, что бактериологический метод борьбы с грызунами ведет свое начало с 1893 г., после того как Леффлер применил для борьбы с полевками в Фессалии культуры бактерий мышиного тифа (Bact. typhi murium), выделенные им при эпизоотии белых мышей в Грейсвальде.

Однако в 1893 г. работа Леффлера уже не являлась новой и ни в коем случае не указывала на его приоритет в использовании бактерий для борьбы с вредными грызунами.

Впервые идея использования и практического применения болезнетворных микроорганизмов для борьбы с вредителями сельского хозяйства вообще и в частности с вредными грызунами принадлежит нашему великому русскому ученому Мечникову [8, 24, 25]. Мечников еще в 1878 г., т. е. за 15 лет до Леффлера, изучая причины вымирания личинок хлебного жука (Anisoplia austriaca), вредителя хлебных культур, выделил из них паразитарный грибок мюскардину, который вызывал массовую гибель личинок. После успешных лабораторных опытов Мечников применял мюскардину на полях для борьбы с хлебным жуком. Результаты оказались эффективными, и Мечников передал дальнейшую разработку прикладной стороны метода энтомологу Красильщику.

Мечников [8, 24] в 1887 г. для борьбы с размножившимися на юге России сусликами начал подыскивать болезнетворных для них бактерий, которые могли быть использованы для истребления сусликов. С этой целью им были испытаны два вида бактерий: мышиной септицемии Bact. murisepticum и куриной холеры Bact. bipolaris avisepticum. Оказалось, что суслики совершенно не восприимчивы к первой бактерии и чрезвычайно чувствительны к заражению второй.

Пастер [8] в 1888 г. впервые установил, что бактерии куриной холеры патогенны для кроликов, и он предложил использовать их для борьбы с дикими кроликами в Австралии, где они сильно размножились и уничтожали посевы. Эффективность бактерий куриной холеры для борьбы с дикими кроликами по предложению Пастера была испытана Лоаром на 8 гектарах земли в Шампани, где они значительно размножились. После применения культур бактерий куриной холеры на зараженной территории погибло около тысячи диких кроликов. Применение бактерий куриной холеры для борьбы с дикими кроликами в Австралии не было разрешено.

Гамалея [6, 7, 8] в 1888 г. ставил опыты по испытанию патогенности первой вакцины куриной холеры для сусликов и подтвердил открытие Мечникова о высокой чувствительности сусликов к этим бактериям,— они гибли на третий день. После пассажа бактерий через сусликов патогенность их возросла, смерть наступала на второй день, а иногда через

8—9 часов после заражения. Гамалея, кроме того, установил, что суслики несравненно чувствительнее к бактериям куриной холеры, чем куры, и сделал очень важное заключение о том, что можно иметь культуры этих бактерий, смертельные для сусликов и безвредные для кур. Это открытие Гамалея сделал после бактериологических исследований кишечника здоровых кур, где он обнаружил безвредных для них бактерий куриной холеры, но патогенных для сусликов и кроликов.

Гамалея в 1888 г. в районе Бендер и Кишинева применил культуры бактерий куриной холеры против сусликов в полевых условиях и получил высокую их смертность. Заражение проводилось приманками из вареного ячменя, который пропитывался культурой куриной холеры и засыпался в норы сусликов. В районе Бендер было заражено 800 нор на одной десятине, а в районе Кишинева — до 2000 нор на 4 десятинах. Суслики, съедая зараженный ячмень, гибли через один-два дня, а из павших были выделены идентичные зараженным бактерии. На основании этих работ Гамалея пришел к выводу о том, что примененные культуры бактерий куриной холеры против сусликов значительно уменьшили число их. На обработанной местности развилась эпизоотия, которая распространилась на соседние участки.

Русский энтомолог Забаринский [13, 25] в 1891 г. на юге России проводил полевые опыты по борьбе с сусликами культурами бактерий куриной холеры и уже на другой день после заражения нор культурой с приманкой из ячменя он находил мертвых сусликов в значительном количестве на полях и в норках. На основании этих опытов Забаринский делает выводы о патогенности культуры бактерий куриной холеры для сусликов, живущих в полях, причем суслики гибнут и в норках и на поверхности полей; о том, что культуру этих бактерий можно применять в течение всего лета и, наконец, что суслики не выселяются с затравленных полей.

Русский ученый Мережковский [19] в 1893 г. в Петербурге из партии сусликов, присланных из Самарской губернии в связи с вспыхнувшей среди них эпизоотией, выделил бактерий, которые оказались патогенными при скармливании культур для следующих видов мышей: домашних, лесных, курганчиковых, малюток, полевок, степных пеструшек, а также для серых хомячков. Он установил безвредность выделенного им микроба для домашних животных, птиц и человека. Мережковский [20, 21] в 1894 г. выделенную им бактерию применил на практике для борьбы с мышами на полях, в скирдах и амбарах на территории Херсонской губернии. В результате этих опытов Мережковский установил смертность грызунов от 79 до 95%. Гибель грызунов начиналась на вторые сутки и продолжалась до 36 суток. Одновременно он наблюдал среди зараженных грызунов эпизоотию, вызываемую поеданием трупов здоровыми грызунами и через зараженный выделениями больных корм. Открытая Мережковским бактерия была названа им Bact. typhi spermophilorum.

Россиков [27] в 1902, 1903, 1905 и в 1914 гг. широко применял культуры бактерии Мережковского для борьбы с мышами и полевками на полях Тульской, Рязанской и Киевской губерний. Он получил высокую эффективность по истреблению этих грызунов, а стойкость результатов продолжалась один год.

Многолетняя практика применения бактерий Мережковского для борьбы с мышами и полевками в России и СССР подтвердила высокую эффективность этих бактерий при истребительных мероприятиях в различных условиях. Гибель грызунов на обрабатываемых территориях достигает 100%. Одновременно подтверждена безопасность этих бактерий для человека и животных.

Выделенная в Германии и примененная Леффлером в 1893 г. в Греции бактерия мышиного тифа была патогенной для домашних мышей

и полевок, но вместе с тем эта бактерия оказалась непатогенной для других видов мышей. Бактерия, выделенная Леффлером, оказалась опасной для людей и животных. В Германии при применении культур этой бактерии для борьбы с грызунами наблюдались неоднократные случаи тяжелых единичных и массовых случаев заболеваний людей и животных даже со смертельным исходом. Патогенность бактерий Леффлера для людей и животных послужила поводом для неправильного освещения в печати Левинсоном [18] и другими авторами опасности применения бактериологического метода для борьбы с грызунами даже другими безвредными для человека и животных бактериями, открытыми Мережковским, Исаченко и Кулеша.

На основании приведенных исторических справок мы можем сделать вывод о том, что великий русский ученый Мечников не только впервые в 1878 г. предложил идею использования микроорганизмов для борьбы с вредителями сельского хозяйства и вредными грызунами, но успешно руководил опытами в полевых условиях по борьбе с хлебным жуком. Мечников впервые в 1887 г. открыл также патогенную для сусликов бактерию (Bact. bipolaris avisepticum). Идеи и принципы Мечникова борьбы с вредителями сельского хозяйства путем использования болезнетворных возбудителей для них привлекли впоследствии к себе внимание других исследователей.

Следовательно, проведенные впервые исследования русских ученых Мечникова, Гамалея, Забаринского, Мережковского по открытию и использованию микроорганизмов для борьбы с вредителями сельского хозяйства и, в частности, с сусликами и мышами были первыми исследованиями и открытиями, которые указывают на приоритет русской науки в открытии бактериологического метода борьбы с вредными грызунами. Французский ученый Пастер в 1888 г. впервые установил патогенность бактерий куриной холеры для кроликов.

Необходимо отметить, что приоритет открытия бактерий, патогенных для крыс, принадлежит также русским ученым Исаченко и Кулеша, роль которых недостаточно освещена в нашей литературе.

В 1897 г. в Петербурге русский микробиолог Исаченко [14, 15] во время эпизоотии среди серых крыс выделил из органов павших крыс бактерий, которые явились возбудителями вспыхнувшей эпизоотии. Исаченко описывает открытую им бактерию как окрашивающуюся отрицательно по Граму, подвижную и отличающуюся вариабильностью размеров в зависимости от среды культивирования. Бактерия не разжижает желатину и хорошо растет на всех питательных средах, на мясопептонном бульоне пленки не образует. После скармливания культур серым крысам смерть их наступала через 8—14 дней а у мышей — через 4—8 дней. При лабораторном испытании патогенности бактерий Исаченко на серых крысах, была установлена смертность их в 97,3%. Исаченко [26] в 1899 г. разослал открытую им бактерию в различные губернии России для практического применения в борьбе с мышами и крысами. В том же году Исаченко по просьбе Данича отправил ему свою бактерию во Францию, так как Данич в то время не имел патогенной бактерии для крыс.

В 70% случаев применения в России культур бактерии Исаченко в практических условиях были получены эффективные результаты.

Широкое испытание культур бактерий Исаченко в практических условиях проводил также Гримм [26, 29] и он пришел к выводу о высокой эффективности этих культур при борьбе с грызунами. Одновременно Гримм проверил и установил безвредность этих бактерий для собак, кошек и домашней птицы.

Кулеша [17] в 1898 г. в Петербурге выделил бактерии, которые по своим свойствам оказались сходными с бактериями, выделенными Исаченко.

Данич (Danysz) [30] сообщил о бактерии, выделенной им в 1893 г. во Франции из полевок во время эпизоотии их. Эти бактерии описывались Даничем как грамположительные и патогенные только для мышей. Данич [31] в 1900 г. сообщает, что он предпринял опыты усиления вирулентности одного из патогенных для мышей микробов, который после этих опытов стал патогенным и для крыс. Данич не указывает, где он отобрал этот микроорганизм, а лишь дает краткое его описание, в котором отмечает, что это коккобацилл, характеризующийся свойствами Bact. coli и имеющий некоторое сходство с бактериями Леффлера. Между указанными двумя сообщениями Данича имеется противоречие. Выделенная им в 1893 г. бактерия описана им как грамположительная, та же бактерия, примененная им в опытах 1900 г., описывается как сходная с кишечной бактерией и бактерией Леффлера, которые, как известно, являются грамотрицательными.

Мережковский [22], Исаченко [29], Гримм [11] в разное время в своих статьях и отчетах указывали на то обстоятельство, что Данич не дает подробного описания как выделенной им первоначально бактерии, так и предложенной им вторично бактерии; кроме того, Данич нигде не отмечал, что выделенная им бактерия потеряла первоначальные признаки или что эта бактерия в результате проведенных с ней манипуляций приобрела новые признаки.

В связи с таким неясным описанием и расхождениями в сообщениях Данича Феоктистов [28] отметил, что Исаченко в отчете о своей работе указывает на то, что «так называемый бацилл Данича, хотя в общих чертах и подобен бациллу, описанному под этим названием Гриммом, но вместе с тем это описание существенно разнится от описания, сделанного Даничем того именно бацилла, который им и найден и который собственно и носит название бацилла Данича. Данич приписал своему бациллу способность краситься по Граму, а бацилл, сохраняемый и рассылаемый сельскохозяйственной лабораторией, не красится по этому способу». Далее Исаченко пишет: «некоторые наблюдения над морфологией этого бацилла позволяют мне высказать, в виде предположения, не есть ли так называемый бацилл Данича (Pseudo Данич), ослабленный крысоубивающий бацилл, выделенный мною и позже Кулеша». Даже в письме к Гримму [29] Данич писал о том, что микроб, культивируемый им в настоящее время (около 1900 г.), уже не окрашивается по Граму, в то время как ранее он рассылал микроб, окрашивающийся по Граму, но так как этот микроб быстро потерял вирулентность, то он его оставил и об этом не публиковал в своих работах потому, что этот вопрос, по мнению Данича, имел мало значения. Гримм по этому вопросу высказал свое предположение, что Данич или ошибся, обозначив выделенный им микроб как грамположительный, или выделил одновременно два различных микроба. Данич [31] в статье, опубликованной в 1900 г., уже не ссылается на свою бактерию как на исходную для усиления вирулентности.

Необходимо сделать предположение, что у Данича вирулентность выделенной им бактерии постоянно ослаблялась в силу того обстоятельства, что он не имел среды, которая хорошо сохраняла бы вирулентность бактерий, и такая среда была открыта Мережковским в России. Это предположение подтверждается тем фактом, что Данич в 1925 г. запросил у Мережковского вирулентный для крыс микроб, так как у него он утратил вирулентность (Коровин [16]).

Гримм [11], описывая результаты своих исследований по изучению бактерии Данича в числе других признаков роста этих бактерий на питательных средах сообщает: «б. Данича на мясо-пептонном бульоне при 37° Ц дает через 24 часа общую муть и довольно толстую пленку на поверхности бульона, которая при встряхивании легко разрывается и спадает на дно в виде хлопьев».

Выделенная в 1897 г. и описанная Исаченко [15] бактерия после роста на мясо-пептонном бульоне в термостате при 37° пленки на поверхности бульона не образует. Имеющиеся во Всесоюзном институте сельскохозяйственной микробиологии штаммы бактерий после суточного и более длительного роста на мясо-пептонном бульоне при 37° пленки на поверхности бульона никогда не образовывали.

Наряду с противоречивыми сообщениями Данича о бактерии, названной его именем, и отсутствием у него подробного описания признаков выделенной им бактерии установлено, что в 1893 г. в России Мережковский, а в 1897 г. Исаченко имели уже не только выделенные и хорошо изученные, но и проверенные на эффективность патогенные для мышей и крыс бактерий, тогда как Данич в 1900 г. еще только проводил опыты по усилению вирулентности неизвестной бактерии, так как не располагал в то время активной бактерией для борьбы с крысами.

Становится очевидным, что русский ученый Исаченко в 1897 г., т. е. на три года раньше Данича, выделил и описал микроорганизм, который обладает высокой патогенностью для крыс и не образует пленки на поверхности бульона. В СССР такие бактерии имеются во Всесоюзном институте сельскохозяйственной микробиологии. Они поддерживаются в активном для крыс состоянии и в действительности являются бактериями Исаченко.

Исходя из вышеизложенных фактов, следует бактерии, сохраняемые в СССР во Всесоюзном институте сельскохозяйственной микробиологии для борьбы с крысами, правильно называть бактериями Исаченко, открытыми им в России в 1897 г., а не бактериями Данича, неправильно называемыми так до настоящего времени.

Русские ученые имеют приоритет не только в открытии бактериологического метода борьбы с вредными грызунами, но и в открытии сред для сохранения патогенности культур, изыскания наиболее эффективных сред для изготовления культур, применяемых в практике, и разработке методики применения культур бактерий в различных условиях хозяйства.

Мережковский около 40 лет работал по борьбе с грызунами бактериологическим методом. За этот срок он заложил основы научной разработки и практического применения бактерий для борьбы с грызунами, открыл среду и метод поддержания патогенности бактерий, разработал методы практического применения бактерий для борьбы с мышевидными грызунами.

Гамалея [6, 7, 8], Антоновский [1, 2, 3, 4], Голубева [9, 10], Богданов [5], Дмитриевская, Чеботарева [12] и другие деятели приложили немало усилий в разработке бактериологического метода борьбы с грызунами в России и СССР, в результате чего наша Родина имеет сеть заводов и лабораторий по изготовлению культур и широко использует этот метод в практике.

Выводы

1. Великий русский ученый Мечников не только впервые предложил идею использования микроорганизмов для борьбы с вредителями сельского хозяйства и вредными грызунами, но успешно руководил опытами по борьбе с хлебным жуком в полевых условиях. Мечников впервые открыл также патогенную для сусликов бактерию. Идеи и принципы Мечникова об использовании микроорганизмов привлекли к себе внимание других исследователей.

2. Русские ученые Гамалея, Забаринский, Мережковский, Исаченко, Кулеша впоследствии разработали идеи и принципы Мечникова по использованию микроорганизмов для борьбы с вредными грызунами и тем самым вместе с Мечниковым установили и закрепили приоритет

русской науки в открытии бактериологического метода борьбы с вредными грызунами.

3. Русским ученым принадлежит приоритет не только в открытии бактериологического метода борьбы с вредными грызунами, но и в разработке сред для сохранения патогенности бактериальных культур, а также методов практического применения их в различных условиях.

4. Сохраняемые в СССР во Всесоюзном институте сельскохозяйственной микробиологии в активном состоянии бактерии для борьбы с крысами имеют признаки бактерий, открытых в 1897 г. и описанных Исаченко. Эти бактерии до настоящего времени неправильно назывались бактериями Данича, их следует называть бактериями Исаченко.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии
Ленинград

Получено 4.XI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антоновский А. И. Современное состояние вопроса по борьбе с грызунами бактериологическим методом в СССР. Защита растений от вредителей, № 4—6, 1930.
2. Антоновский А. И., С. С. Мережковский (1863—1930), Некролог. Защита растений от вредителей, 7, вып. 4—6, 419, 1930.
3. Антоновский А. И. Принципы биологического метода борьбы с грызунами при помощи бактерий. Тр. Всес. ин-та с.-х. микроб., VIII, вып. 1, 1936.
4. Антоновский А. И. Испытание аутолизированных осадочных пивных дрожжей для приготовления массовых культур крысо-мышеубивающих палочек. Тр. Всес. ин-та с.-х. микроб., VIII, вып. 1, 1936.
5. Богданов П. А. Молочная питательная среда для изготовления массовых крысоубивающих культур. Защита растений от вредителей, VII, вып. 4—6, 1931.
6. Гамалея Н. Ф. Об истреблении сусликов бактериями куриной холеры. Записки Об-ва сельского хозяйства южной России, 1888, 8 5—7, 193, 1888.
7. Гамалея Н. Ф. Об опасностях, сопряженных с применением нового метода. Записки Об-ва сельского хозяйства южной России, № 5—7, 206, 1888.
8. Гамалея Н. Ф. Воспоминания, I, 1947.
9. Голубева М. П. Усиление вирулентности б. Данича и б. Мережковского для серых крыс при помощи замораживания. Тр. Всес. ин-та с.-х. микроб., VIII, вып. 1, стр. 43, 1936.
10. Голубева М. П. Бактериологический метод борьбы с грызунами. Итоги н.-иссл. работ Всес. ин-та с.-х. микроб. за 1939 г. Сельхозгиз, 1941 г.
11. Гримм М. Д. К вопросу о самостоятельности бацилла Данича. Бот. записки С.-Петерб. ун-та, № 15, 1898.
12. Дмитриевская Н. А., Чеботарева М. Ф. Питательные среды для крысо- и мышеубивающих бактерий. Архив биол. наук, XXIX, вып. III, 385, 1929.
13. Забаринский П. А. Опыты борьбы с сусликами бактериями куриной холеры, произведенные в 1891 г. Записки Об-ва сельского хозяйства южной России, № 10, 103, 1891.
14. Исаченко Б. Л. О новом патогенном для крыс бацилле. Изв. Министерства земледелия и гос. имущества, № 20, стр. 310, 1898.
15. Исаченко Б. Л. (Issatschenko B.). Ueber einen neuen für Ratten pathogenen Bacillus. Vorläufige Mitt. Ctbl. Bakt., XXIII, N 20, 1898.
16. Коровин Ф. Т. Опыт сплошной дератизации о. Котлин. Диссертация, 1946.
17. Кулеша Г. С. О современном состоянии бактериологического метода борьбы с вредными для сельского хозяйства грызунами в России. Наше хозяйство, № 48—49, 1900.
18. Левинсон Я. Б. Бактериологический метод истребления вредных грызунов. Москва, 1923.
19. Мережковский С. С. Бацилл, выделенный из сусликов и пригодный для истребления мышей. Архив вет. наук, декабрь, 1895.
20. Мережковский С. С. Опыты заражения мышей в амбарах и скирдах бациллом, выделенным из сусликов. Архив вет. наук, № 6, 1895 г.
21. Мережковский С. С. Результаты полевых опытов истребления мышей бациллом, выделенным из сусликов. Архив вет. наук, № 6, 1895.
22. Мережковский С. С. Поддержание вирулентности бацилла Данича пассажами через серых крыс (Mus decumanus) при заражении их per os. Тр. с.-х. бакт. лаб., т. II, 1910.
23. Мережковский С. С. Новая питательная среда, в которой бацилл Данича не теряет своей вирулентности даже после очень продолжительных непрерывных пересевов. Тр. с.-х. бакт. лаб., IV, вып. 4, 1911.

24. Мечников И. И. Болезни хлебного жука. О хлебном жуке — 1879.
25. Мечникова О. Н. Жизнь Ильи Ильича Мечникова, стр. 90 и 104, 1926.
26. Отчет о деятельности сельскохозяйственной бактериологической лаборатории Министерства земледелия за 1897, 1898 гг.
27. Россиков К. П. Полевые мыши и меры борьбы с ними. 1917.
28. Феоктистов А. Прием и результаты бактериологического метода борьбы с сусликами. 1899.
29. Феоктистов А. Отчет о деятельности сельскохозяйственно-бактериологической лаборатории Министерства земледелия за 1899, 1900, 1901 гг.
30. Danysz I. Maladies contagie uses des animaux naisibles. Paris, 1895.
31. Danysz I. Un mucrobe pathogène pour les rats (Mus decumanus et Mus rattus) et son application à la destruction de ces animaux. Ann. Inst. Past., XIV, 1900, p. 196.

О НАСИЛЬСТВЕННОМ АНТАГОНИЗМЕ У БАКТЕРИЙ

(Из работ И. Г. Шиллера)

Н. С. Егоров

Открытие антибиотических веществ и их широкое применение в терапии послужили стимулом для дальнейших поисков новых антибиотиков, образуемых различными живыми существами.

Благодаря усилиям микробиологов и микологов во взаимодействии с биохимиками и физиологами к настоящему времени описано более ста антибиотиков, образуемых различными организмами.

Однако большинство из описанных антибиотических веществ являются или токсичными по отношению к макроорганизмам, или инактивируются последними, или же, наконец, являются неэффективными по отношению к тем или иным возбудителям. Поэтому лишь немногие антибиотики используются как терапевтические препараты.

Подходя с эволюционных позиций к вопросу об образовании антибиотических веществ микробами, Имшенецкий [2] рассматривает образование антибиотиков как частный случай антагонистических взаимоотношений между микроорганизмами.

В настоящее время, указывает Красильников [4], можно сказать, что «нет таких микроорганизмов, в отношении которых не было бы антагонистов».

Антагонистические взаимоотношения между микроорганизмами проявляются у разных видов по-разному. Иногда угнетение или подавление роста одного вида микробов другим происходит благодаря изменению условий существования в неблагоприятную сторону для одного из организмов. Такое изменение условий существования может идти по двум путям.

1. Истощение питательного субстрата вследствие более быстрого развития одного организма по сравнению с другим, находящимся в тех же условиях, что и первый. Медленно развивающийся организм из-за недостатка питательных веществ в среде будет в угнетенном состоянии или же совсем не сможет развиваться.

2. Некоторые организмы в процессе своей жизнедеятельности образуют кислые или щелочные продукты, обеспечивая тем самым благоприятные условия для своего развития и неблагоприятные для других организмов. Так подкисление субстрата при образовании лимонной кислоты грибами имеет, как указано В. Н. Шапошниковым [6], двоякое значение. «Функция кислотообразования у грибов,— отмечает названный автор,— есть не что иное, как приспособление к созданию наиболее благоприятной для их развития среды. Помимо того, кислотность является средством устранения конкурентов, особенно бактериальных организмов, для которых в большинстве случаев кислая среда неблагоприятна».

Нередко задержка или полное подавление роста других видов микробов происходит вследствие образования микроорганизмами специфических продуктов обмена веществ, выделяемых в окружающую среду и получивших название антибиотиков.

Способностью образовывать антибиотические вещества обладают многие виды бактерий, актиномицетов, грибов и других организмов.

Вопросам антагонистических взаимоотношений в мире микроорганизмов посвящено значительное количество работ. Однако по неясным для автора настоящей статьи причинам в нашей литературе совсем не уделяется или уделяется очень мало внимания замечательному, на наш взгляд, явлению так называемого «насильственного антагонизма», подробно изученного нашим соотечественником — советским ученым И. Г. Шиллером.

Сущность «насильственного или спровоцированного» антагонизма состоит в том, что если бактериям, которые в естественных условиях не проявляют никаких признаков антагонизма, создать такие условия, где бы в среде был недостаток питательных веществ (азотных или углеродных), то одна из бактерий, обладающая протеолитическими ферментами, может использовать в качестве питательного материала другие бактерии, не обладающие таковыми. «Отправной точкой насильственного антагонизма,— пишет Шиллер [15],— служит положение, что для животных и растительных клеток можно создать такие условия, когда два вида клеток, хорошо между собой уживающиеся, становятся антагонистами, и один вид размножается за счет другого, уничтожая его» (стр. 295).

Еще в 1914 г., изучая в лаборатории Мечникова противогнилостную роль молочнокислых бактерий, Шиллеру удалось установить, что при совместном засеве в бульон ацидофильной палочки типа Моро и стрептококка последний разрушается через 18 часов, превращаясь в аморфную массу. Изучение этого явления показало, что ацидофильная палочка выделяет бактерицидные вещества, лизирующие стрептококк, причем выделение такого вещества происходит только в присутствии стрептококков. Иными словами, выделение ацидофильной палочкой бактерицидных веществ «является ответной реакцией на присутствие в среде стрептококков, т. е. проявлением защитных свойств описанной палочки» [18, стр. 297].

В последующих работах Шиллеру удалось вызвать насильственный антагонизм у B. mesentericus, B. subtilis, B. anthrax, обладающих протеолитической активностью по отношению к бактериям, способным использовать пептон (обладающих пептолитическими ферментами). Если поместить сенную или картофельную палочки со стрептококком, отмечает Шиллер [9], на водный агар или в воду (палочки обладают протеолитическими, а стрептококк — пептолитическими свойствами), при этом происходит растворение стрептококка и размножение палочек.

Названный автор [15], ссылаясь на работу Зильбера и Востроуховой (Советская врачебная газета, 1932, № 15—16), отмечает, что последним удалось культивировать оспенный вирус на дрожжах. Этот пример, по мнению Шиллера, представляет собой типичное явление насильственного антагонизма. В данном случае роль поставщиков питательного материала выполняют дрожжи.

В условиях азотного и углеродного голодания дрожжи легко используются в качестве питательного материала многими бактериями (тифа, паратифов, стафилококками и др.). «В голодной среде без углеводов,— пишет Шиллер [11],— все бактерии могут размножаться за счет дрожжей, образуя чистую культуру».

В голодной среде Шиллеру [13] удалось культивировать палочки Коха на пивных дрожжах. В иных условиях культивирования (2%-ный водный раствор сахарозы или глюкозы или водный агар с 2% этих сахаров), где дрожжи находятся в более выгодном положении, последние сами размножаются за счет целого ряда бактерий, находящихся вместе с дрожжами [10, 12].

Явление насильственного антагонизма Шиллеру удалось получить не только на голодных средах и не только между бактериями. Антагонизм «можно спровоцировать, пишет Шиллер [19], и в питательных средах,

обеспечивая одному виду максимальную активность и вынуждая другой к пассивности».

Насильственный антагонизм можно получить между клетками различных организмов (Шиллер [14]). Автор [1927] получил развитие негемолитического стрептококка за счет растворения им эритроцитов, культивируя первый в физиологическом растворе, лишенном растворенного азота. Стрептококк выделяет при этом в среду гемолизин, способный растворять свежие эритроциты.

При выращивании сапрофитов на сердечной мышце, тканях печени и мозга мыши были получены лизины, переваривающие названные ткани, причем ферментативные вещества, полученные при культивировании B. mesentericus на сердечной мышце мыши, при введении в организм последней убивали ее в течение 16—48 часов [20, 21].

И. Шиллер указывает, что использование живых клеток в качестве питательного материала при насильственном антагонизме происходит тем же способом, каким бактерии используют нерастворимые белковые вещества, т. е. путем выделения протеолитических ферментов. Кроме того, количество лизинов, образуемых антагонистами, зависит от количества клеток, подлежащих литическому действию.

При совместном выращивании патогенных стафилококков с B. subtilis в условиях, вызывающих насильственный антагонизм сенной палочки к стрептококкам, автор получил лизин, образуемый B. subtilis в концентрированном виде. Данный лизин с успехом использовался при лечении стафилококковых заболеваний, упорно и длительно не поддававшихся никакому терапевтическому воздействию.

Шиллер [18] отмечает, что Грациа в 1930 г. с успехом применял выделяемые антагонистами лизины для лечения упорных случаев фурункулеза.

Шиллер [18] указывает на возможность использования продуктов насильственного антагонизма при лечении гидроаденитов, воспалительных процессов пульпы и других заболеваний и приходит к выводу, что «при помощи бактериолитических веществ, выделяемых сапрофитами и направленных против патогенных бактерий, можно бороться с местными инфекционными заболеваниями (стр. 302). Автор [16, 17] использовал метод насильственного антагонизма для получения туберкулина и для изучения туберкулезной бациллемии.

Особенно большого внимания заслуживает факт получения бактериологического препарата, образующегося при развитии B. mesentericus на тканях различных органов животных.

Сам автор [18], отмечая положительное разрешение данного явления, пишет следующее: «Этот вопрос особенно интресен с точки зрения возможности разрушения внутри организма отдельных клеток (неоплазмы)» (стр. 299—300).

Благодаря насильственному антагонизму, отмечает Шиллер [15], впервые доказана возможность получать чистые культуры микроорганизмов, культивируя их на микроорганизмах.

Первая работа Шиллера [8], посвященная насильственному антагонизму, подверглась проверке Веденяпиным [1], который пытался доказать возможность отмирания в дестиллированной воде как клеток стрептококков, так и клеток B. subtilis, независимо от выделения последним протеолитических ферментов, лизирующих стрептококковые клетки, причем, указывает Веденяпин, отмирание клеток стрептококков происходит в дестиллированной воде быстрее клеток сенной палочки.

Однако ряд исследователей (Грациа, Прока и др.), отмечает Шиллер [17], подтвердили работы по насильственному антагонизму бактерий.

Таким образом, следует признать, что работы Шиллера по насильственному или спровоцированному антагонизму имеют большое как теоретическое, так и практическое значение. Они показывают, что при

определенных условиях культивирования микробов можно получать антибиотические препараты направленного действия, которые в обыкновенных условиях не образуются.

Г. П. Калина [3], анализируя работы Шиллера по разбираемому вопросу, пишет: «Этот автор, работая на протяжении нескольких десятков лет, по существу гениально предвосхитил идею антибиотиков. Больше того, в работах Шиллера указан четкий путь для искусственного получения антибиотиков с необходимой для практического применения специфической направленностью.

...Перспективы применения явлений насильственного антагонизма чрезвычайно широки, включительно до возможности воздействия на злокачественные новообразования» (стр. 92—93).

Представляется, что вопрос о насильственном антагонизме микробов, основанный на способности микробов вырабатывать при соответствующих условиях культивирования определенные ферментативные вещества, подтверждается рядом других исследований, непосредственно не рассматривающих это явление с позиций антагонизма, но имеющих к нему, как нам кажется, прямое отношение.

Способностью образовывать специфические ферменты обладают некоторые гнилостные бактерии, не отмеченные Шиллером. Так, Шапошников [6], анализируя отношения Bact. vulgare (Proteus vulgaris) к белкам, отмечает, что данный микроорганизм на белковой среде «обладает ясно и резко выраженными гнилостными свойствами», т. е. он вырабатывает протеолитические ферменты. Если же данный организм поместить в условия, где питательная среда будет иметь наряду с белками сахар, например глюкозу, то образование протеолитических ферментов резко снижается или совсем не происходит.

Нортроп с сотрудниками [5] указывает, что иногда ферменты образуются как специфический ответ на присутствие соответствующего субстрата или продуктов его разложения.

Ферменты, которые образуются организмами только в случае потребности в них и при определенных условиях, получили название адаптивных ферментов.

Нам кажется, что вещества, получающиеся при насильственном антагонизме, которые И. Шиллер называет лизинами, являются такими продуктами жизнедеятельности бактериальной клетки, которые, нарушая обмен веществ и вызывая смерть бактериальной клетки другого вида, растворяют ее. По своей последней функции растворять предварительно убитую и превращенную таким образом в субстрат клетку лизины выступают как адаптивные протеолитические ферменты.

Разобранные нами различные формы проявления антагонизма (подкисление или подщелачивание субстрата, образование антибиотических веществ и, наконец, насильственный антагонизм) не имеют, на наш взгляд, с общебиологической точки зрения принципиальной разницы.

Общность всех этих явлений мы усматриваем в следующем: во-первых, во всех разнообразных случаях антагонизм проявляется лишь между организмами различных видов; во-вторых, факторами, обуславливающими антагонистическое проявление, являются во всех случаях продукты жизнедеятельности, продукты обмена веществ микробной клетки.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Получено 17.II.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Веденяпин С. А. К вопросу о существовании насильственного антагонизма у бактерий. Врач. газ. № 7—8, 166, 1925.
2. Имшенецкий А. А. Открытие антибиотиков и задачи общей микробиологии. Бюлл. эксп. биол. мед., т. XXIII, вып. 5, 1947.

3. Калина Г. П. Изменчивость патогенных микробов. Мед. изд-во УССР, 1949.
4. Красильников Н. А. Антибиотические свойства микроорганизмов. Общая биология, т. VIII, № 1, 1947.
5. Нортроп Д., Кунитц М., Херриортт Р. Кристаллические ферменты (Перевод с английского под редакцией проф. В. Ореховича). Изд-во иностр. лит., 1950.
6. Шапошников В. Н. Техническая микробиология. Изд-во «Советская наука», 1948.
7. Шиллер И. Г. Sur les produits des microbes en association. Ztbl. Bakt., **73**, 123, 1914.
8. Шиллер И. Г. О насильственных антагонистах у бактерий. Врач. дело, № 21—23, 562, 1923.
9. Шиллер И. Г. Ueber erzwungene Antagonisten. Ztbl. Bakt. Orig. **91**, 68, 1923.
10. Шиллер И. Г. Ueber erzwungene Antagonisten. Ztbl. Bakt. Orig. **92**, 124, 1924.
11. Шиллер И. Г. Ueber erzwungene Antagonisten. Ztbl. Bakt. Orig. **94**, 64, 1924.
12. Шиллер И. Г. Ueber erzwungene Antagonisten. Ztbl. Bakt. Orig. **96**, 54, 1925.
13. Шиллер И. Г. О насильственном антагонизме (по поводу статьи С. А. Веденяпина). Врач. газ., № 6, 1926.
14. Шиллер И. Г. Ueber erzwungenen Antagonismus. Ztbl. Bakt. Orig., **103**, 304, 1927
15. Шиллер И. Г. О насильственном антагонизме (дрожжи и оспенный вирус). Сов. врач. газ., № 8, 295, 1933.
16. Шиллер И. Г. Ueber erzwungene Antagonisten. (Zur Frage über die tuberkulöse Bazillämie). Ztbl. Bakt. Orig. **129**, 139, 1933.
17. Шиллер И. Г. Туберкулезная бациллемия и насильственный антагонизм. Борьба с туберкулезом, № 1, стр. 24—29, 1934.
18. Шиллер И. Г. Насильственный или спровоцированный антагонизм бактерий и его применение в терапии. Сборник работ Украинского гос. ин-та стоматологии (Одесса), т. VI, 297, 1940.
19. Шиллер И. Г. О цито- и органотропных токсинах, образуемых бактериями. Тр. Одесской 2-й клинич. больницы, т. V, 78, 1947.
20. Шиллер И. Г. и Рублева-Корабельникова. Ueber erzwungene Antagonisten. Ztbl. Bakt. Orig., **122**, 288, 1931.

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ *

Общая микробиология

Азбукина З. М. К биологии некоторых видов ржавчинных грибов, поражающих злаки в Приморском крае. Сообщ. Дальневосточного филиала им. Комарова Акад. Наук СССР, 1951, вып. 2, стр. 19—21.

Бархаш А. П. и Демяновская Н. С. Глюконокиназа дрожжей. ДАН СССР, 1951, т. 79, № 4, стр. 625—628.

Безброж И. И. Наблюдения над наличием антибиотических субстанций в некоторых тканях животного организма. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 3, стр. 50—53.

Беликов Л. А. Панкреатический гидролизат кеты, как основа бактериологических питательных сред. Труды Хабаровского ин-та эпидемиологии и микробиологии, 1951, сб. 1, стр. 131—135.

Берг Л. С. Синтез иодоформа актиномицетом. Природа, 1951, № 3, стр. 58.

Блок Г. Великий трудолюбец (К 35-летию со дня смерти И. И. Мечникова). Огонек, 1951, № 31, стр. 20—21.

Бобченко Е. С. Стафилококки, естественноустойчивые к пенициллину. Сообщение II. Культурно-биохимические свойства. Мікробиолог. журнал, 1951, т. 13, № 2, стр. 103—106.

Борисова Л. Н. Перезимовка стеблевой ржавчины злаков (Puccinia graminis Pers.). Бюллетень Моск. об-ва испытат. природы, Отд. биол., 1951, вып. 2, стр. 79—89.

Брызгалова В. А. К биологии Puccinia graminis Pers. f. secalis (возбудитель линейной ржавчины ржи). Труды Всесоюз. ин-та защиты растений, 1951. вып. 3, стр. 201—204.

Брызгунова Е. В. Образование фильтрующихся форм бактерий в культурах на жидких и плотных питательных средах. (Стадийное развитие и изменчивость микроорганизмов. Сообщение 7.) Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 2, стр. 24—26.

Вайндрах Г. М. Рецензия на книгу: Мечников И. И. Избранные биологические произведения. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 1, стр. 71—73.

Васильева Л. Н. О биологии ржавчины зерновых культур в Приморском крае. Сообщ. Дальневосточного филиала им. Комарова Акад. Наук СССР, 1951, вып. 2, стр. 15—19.

Выгодчиков Г. В. И. И. Мечников. Наука и жизнь, 1951, № 7, стр. 22—23.

Гаузе Г. Ф. Рецензия на книгу: Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. Сов. книга, 1951, № 7, стр. 31—32.

Гращенков Н. И. Д. И. Ивановский — выдающийся русский ученый. (Основоположник вирусологии. Доклад на общем собрании Отд-ния биол., с.-х. и мед. наук, посвящ. 30-летию со дня смерти Д. И. Ивановского, 14 дек. 1950 г.). Известия Акад. Наук Белорус. ССР, 1951. № 1, стр. 74—101.

Грязнов И. С. Выдающийся микробиолог и эпидемиолог. Памяти академика Д. К. Заболотного (1866—1929). Медицинская сестра, 1951, № 7, стр. 28—32.

Дяченко С. С. Д. И. Ивановский — основоположник учения о вирусах. (1864—1920). Врачебное дело, 1951, № 6, стр. 555—558.

Ерзинкян Л. А. О лечебных свойствах молочнокислых ацидофильных бактерий. Микробиол. сборник АН Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 193—196.

Зерова М. Я. Новые для СССР и интересные грибы на азалии понтийской (Asalea pontica L.). Ботанічний журнал АН УССР. 1951, т. 8, № 2, стр. 75—79.

Ибрагимов Г. Р. Специализация видов Colletotrichum на некоторых бобовых, тыквенных и пасленовых растениях. Труды Всесоюз. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 205—212.

Ивиня Э. Исследование морфологии молочнокислых бактерий. Известия АН Латв. ССР, 1950, № 11(40), стр. 77—82.

Исаченко Б. Л. Избранные труды. (Отв. ред. чл.-кор. АН СССР А. А. Имшенецкий. Вступит. статьи Е. Н. Мишустина и С. И. Кузнецова). Т. 1, М.—Л. 1951, 410 стр.

Казанская Т. Б. О связи образования молочной кислоты с развитием Thermobacterium cereale. Дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук. М., 1951, 98 стр.

* Составлена сотрудниками библиотеки Отделения биологических наук АН СССР под руководством доктора биологических наук Т. К. Лепина.

Калина Г. П. и Брызгунова Е. В. Образование фильтрующихся форм бактерий при механическом и физическом воздействии на микробную популяцию. (Стадийное развитие и изменчивость микроорганизмов. Сообщение 8.). Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 2, стр. 26—28.

Канчавели Л. А. и Мелия М. С. Неизвестные представители рода Phyllosticta в микрофлоре Грузинской ССР. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 233—242.

Карпенко М. К. Дегидразная активность Cl. Welchii, Мікробіолог. журнал, 1951, т. 13, № 2, стр 62—78.

Катаев И. А. Головневые грибы Туркменской ССБ. (Дополнит. сведения о видовом составе). Известия Туркм. филиала Акад. Наук СССР, 1950, № 5, стр. 90—93.

Катаев И. А. Ржавчинные грибы Туркменистана. (Дополнит. материалы о видовом составе) Известия Туркм. филиала Акад. Наук СССР, 1951, № 1, стр. 32—38.

Кирьялова Е. Н. Дрожжи северного винограда. Труды Всесоюзн. научно-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11. вып. 2, стр. 130—139.

Китавин Г. С. К вопросу о факторах образования витамина B_2 грибком Aspergillus niger. Учен. записки (Кишиневский гос. ун-т), т. III, вып. II, 1951, стр. 31—56.

Клейн Б. И. Наблюдения в фазоконтрастном и электронном микроскопах над процессом лизиса бактерий. Природа, 1951, № 6, стр. 47—48.

Ковровцева С. А. К вопросу о взаимоотношениях бактерий с дрожжами. Труды Всесоюзн. научно-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т, 11, вып. 2, стр. 143—147.

Колошина Л. М. Пероноспоровые грибы, паразитирующие на растительности Туркменистана. Известия Туркм. филиала Акад. Наук СССР, 1951, № 1, стр. 39—44.

Косиков К. В. Направленная изменчивость ферментативных свойств дрожжей под влиянием специфического субстрата. ДАН СССР, 1951, т. 80, № 1, стр. 105—107.

Красильников Н. А. Внутри- и межвидовые антагонистические взаимоотношения у микроорганизмов. Успехи современной биологии, 1951, т. 31, № 3, стр. 346—361.

Красильников Н. А. Существует ли внутривидовой антагонизм у микроорганизмов? (Автореферат). Природа, 1951, № 7, стр. 59—60.

Красильников Н. А., Кореняко А. И., Никитина Н. И. и Скрябин Г. К. Внутри- и межвидовые взаимоотношения и принципы распознавания вида у микробов-антагонистов. Известия АН СССР, 1951, № 4, стр. 66—80.

Красильников Н. А., Кореняко А. И., Никитина Н. И. и Скрябин Г. К. О специфике межвидового антагонизма как принципе распознавания и подразделения видов у микроорганизмов. ДАН СССР, 1951, т. 77, № 4, стр. 725—728.

Крестовникова В. А. К учению о стадиях развития микроорганизмов. М., 1950. 36 стр.

Крисс А. Е. Рецензия на книгу: Мейсель М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов, М.—Л. 1950, Сов. книга, 1951, № 7, стр. 27—30.

Крисс А. Е. и Бирюзова В. И. Автолиз и лизис бактериальной клетки. 3. Формалин как литический агент. Журнал общей биологии, 1951, № 3, стр. 211—224.

Крисс А. Е. и Бирюзова В. И. Ускорение процессов распада бактериальной клетки под влиянием некоторых веществ. Природа, 1951, № 5, стр. 36—48.

Кронтовская М. К. Учение о вирусах. Медицинская сестра, 1951, № 6, стр. 3—6.

Кухаркова А. М. Влияние витаминов на размножение азотобактера и связывание им атмосферного азота. Ученые записки Харьк. гос. ун-та, т. 32. Труды научно-иссл. ин-та биологии, 1950, т. 13, стр. 149—157.

Литвинов М. А. и Нюкша Ю. П. Рец. на книгу: Метелкин А. И.— Л., С. Ценковский. (Основоположник школы микробиологов). М. 1950. 263 стр. Природа, 1951, № 8, стр. 87—90.

Лубенец Е. К. Углеводы как структурные части липидов дифтерийного микроба. Вопросы мед. химии, 1951, т. 3, стр. 82—93.

Масюков А. В. К вопросу о вегетативной гибридизации микробов и о книге Г. М. Бошьяна «О природе вирусов и микробов». Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 2, стр. 12—16.

Миленушкин Ю. И. Научная сессия, посвященная памяти Д. И. Ивановского. (Москва, ноябрь 1950 г.). Природа, 1951, № 5, стр. 84—86.

Минкявичус А. Главнейшие виды головни и степень их распространенности на злаках в Литовской ССР. Труды Ин-та биологии Академии Наук Литовск. ССР. 1951, т. 1, стр. 31—46.

Мишустин Е. Н. Термофилы. (Работы советских ученых по изучению термофильных микроорганизмов). Наука и жизнь, 1951, № 5, стр. 9—12.

Муромцев С. Н. Новые работы о наследственности и ее изменчивости у микроорганизмов. Журнал микробиологии, эпидимиологии и иммунобиологии, 1951, № 3, стр. 3—14.

Муромцев С. Н. Фильтрующиеся формы бактерий. Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 5, стр. 3—9.

Муромцев С. Н. Фильтрующиеся формы микроорганизмов и ультравирусы. Журнал общей биологии, 1951, № 3, стр. 161—175.
Научная конференция по бактериофагии. Ленинград, 1951, Тезисы докладов. 15 стр.
Николай Федорович Гамалея. (Микробиолог. 1859—1949). Деятельность в Одессе. Ученые записки Одесск. гос. научно-иссл. ин-та эпидемиологии и микробиологии им. Мечникова, 1951, вып. 1, стр. 3—7.
О видообразующей изменчивости микробов. Вестник Акад. мед. наук СССР, 1951, № 2, стр. 39—44.
Павловский Г. Т. Способ бактериологических посевов на одной чашке Петри. Военно-медицинский журнал, 1951, № 7, стр. 75.
Перетц Л. Г. Микробный антагонизм и антибиотики. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 3, стр. 18—24.
Пестинская Т. В. Биологические особенности вида Sphaeropsis malorum Berk (Возбудитель черного рака плодовых деревьев). Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 213—221.
Пивкина А. Ф. К перезимовке на Дальнем Востоке линейной (стеблевой) ржавчины пшеницы (Puccinia graminis f. sp. tritici) уредоспорами Сообщ. Дальневосточного филиала им. Комарова Акад. Наук СССР. 1951, вып. 2, стр. 11—15.
Покотинский И. С., Кривицкий А. С., Лузянина Т. Я. Новый метод изучения развития микробов и бактериальных вирусов в электронном микроскопе. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1591, № 5, стр. 19—22.
Применение метода флуоресцентной микроскопии для определения живых и мертвых клеток водорослей. (В лаборатории геологической деятельности микроорганизмов Ин-та микробиологии). Вестник АН СССР, 1951, № 3, стр. 100—102.
Программа курса «Основы общей микробиологии». Для с.-х. техникумов пчеловодства. Утв. 18/XII 1950 г. М., 1951, 4 стр.
Программа по микробиологии. (Для биол.-почв. факультетов гос. ун-тов). Утв. Главн. упр. ун-тов. М., 1951, 11 стр.
Программа по основам микробиологии. Для учащихся товароведных отделений техникумов сов. торговли. (Утв. 26/II 1951 г.), М., 1951, 8 стр.
Программа по физиологии растений и микробиологии. (Для фак. лесного хозяйства, лесомелиорации и озеленения городов и населенных мест лесотехн. и лесохоз. высших учебных заведений). Утв. 12/VII 1950 г. Л., 1951, 12 стр.
Пумпянская Л. В. О новом виде дрожжей. Труды Всесоюзн. научно-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 140—142.
Рутштейн Н. Д. Применение розоловой среды взамен среды Эндо. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 4, стр. 35—37
Серенков Г. П. и Сизова Т. П. Об отношении некоторых экологических групп грибов к протоанемонину. Вестник Моск. ун-та, 1951, № 3, стр. 59—67.
Силантьев Е. И. Несколько замечаний на книгу Г. М. Бошьяна «О природе вирусов и микробов». Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 1, стр. 75—79.
Скалон И. С. Размножение дрожжей на средах, облученных проникающими лучами. Известия Естественно-научн. ин-та им. П. Ф. Лесгафта, 1951, т. 24, стр. 31—38.
Скородумова А. М. Антибиотические свойства дрожжей, сбраживающих лактозу. ДАН СССР, 1951, т. 80, № 2, стр. 257—259.
Смиренина Л. Б. Об изменчивости микробов и вирусов. Естествознание в школе, 1951, № 3, стр. 25—28.
Смирнов И. К. Рецензия на книгу: Бошьян Г. М. О природе вирусов и микробов, 2-е изд., М., 1950. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 2, стр. 69—71.
Стерлигова М. Лучи, убивающие микробов. (Бактерицидные лампы и их применение). Техника молодежи, 1951, № 7, стр 19.
Федоринчик Н. С. Роль антагонистов в подавлении заразного начала возбудителей болезней, передающихся через почву. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 69—73.
Хохряков М. К. Некоторые вопросы систематики грибов. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 222—234.
Шиллер И. Г. В лаборатории Мечникова. (Воспоминания. С предисл. ред.) Знание — сила, 1951, № 4, стр. 9—11.
Шипицына Г. К. и Дубровская И. И. О гексозамине в биологических объектах. ДАН СССР, 1951, т. 78, № 2, стр. 331—334.
Эльберт Б. Я. Рецензия на книгу: Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М.— Л., 1949. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1951, № 6, стр. 77—82.
Элькин С. Б. Химическое исследование специфических полисахаридов трех видов салмонелл. Биохимия, 1951, т. 16, № 2, стр. 133—138.
Этингоф Р. Н., Збарский Б. И. и Мармалевская Л. Я. О механизме действия фенилуретана на бактерии. Сообщение II. Вопросы медицинской химии, 1951, т. 3, стр. 216—228.

Сельскохозяйственная микробиология

а) Почвенная микробиология, бактериальные удобрения

Александров В. Г. Применение силикатных бактерий под хлопчатник. Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 5, стр. 25—33.

Бактериальные удобрения. Под общей редакцией Л. М. Дорошинского. Л. 1951, 79 стр.

Батаев П. С. Невидимые помощники. (О почвенных бактериях). Наука и жизнь, 1951, № 9, стр. 21—23.

Березова. Е. Ф. и Рempe Е. Х. Действие минерального и органо-минерального гранулированного суперфосфата на микрофлору почвы. Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 4, стр. 3—8.

Богопольский М. Д. Корневая система трав — биологический фактор самоочищения почв. Природа, 1950, № 7, стр. 66—68.

Вавуло Ф. П. Влияние местных штаммов азотобактера на урожай яровой пшеницы на низинных торфяных почвах. Известия Акад. Наук Белорус. ССР, 1950, № 6, стр. 51—55.

Геллер И. А. и Харитон Е. Г. Использование азотобактера и других микроорганизмов для повышения урожая и сахаристости сахарной свеклы. Сов. агрономия, 1951, № 3, стр. 65—68.

Геллер И. А. и Харитон Е. Г. О влиянии азотобактера на окислительно-восстановительный потенциал тканей растений. ДАН СССР, 1951, т. 78, № 5, стр. 1041—1043.

Григорьева А. П. Влияние азотобактерина на рост и плодоношение яблони. Доклады Акад. Наук УзССР, 1951, № 3, стр. 41—43.

Гудкова Т. В. Бактерии-антагонисты кишечно-тифозной группы в подзолистых почвах. Гигиена и санитария. 1951, № 5, стр. 41—44.

Дараселия Н. А. Микрофлора ризосферы чайного куста. Бюллетень Всесоюзн. научно-иссл. ин-та чая и субтроп. культур, 1950, № 3, стр. 42—58.

Дараселия Н. А. К микробиологической характеристике почв Колхидской низменности в связи с их мелиорацией. Бюллетень Всесоюзн. научно-иссл. ин-та чая и субтроп. культур, 1951, № 1, стр. 124—132.

Диковский Ф. Ф. Определение потребности почв в кислороде как метод оценки возможностей развития в них аэробных микробиологических процессов. ДАН СССР, 1951, т. 80, № 2, стр. 253—256.

Дорошинский Л. М. Корневое питание растений и микроорганизмы. Агробиология, 1951, № 2, стр. 40—48.

Езубчик А. А. и Конашевич З. И. Распространение некоторых групп микроорганизмов в лесных почвах Полесья. В книге: «О лесах Полесья», 1951, стр. 167—179.

Елкина О. Г. Влияние разлагающихся корневых остатков в почве на денитрификаторов под хлопчатником. Труды Среднеаз. гос. ун-та. Новая серия, вып. 18, Биол. науки, кн. 7, 1950, стр. 89—102.

Зиновьева Х. Г. Влияние ризосферы некоторых сельскохозяйственных растений на азотобактер. Сообщение II—III. Мікробіолог. журнал, 1951, т. 13, № 2, стр. 21—33 и 34—47.

Канивец И. И. Сопряженность биологических процессов в микрозонах корневых систем растений в связи с явлениями почвоутомления. (Доклад на Всесоюзной конференции по с.-х. микробиологии). Научные записки Молдавского филиала Акад. Наук СССР, 1950, т. 3, стр. 3—15.

Квасников Б. В. Клубеньковые бактерии сортов овощного гороха. Агробиология, 1951, № 3, стр. 151—154.

Квасников Е. И. и Петрушенко О. П. Азотобактер в поливных почвах Узбекистана при травопольной системе севооборотов. Доклады Акад. Наук Уз. ССР, 1951, № 5, стр. 35—40.

Кожинова Л. А. Самоочищение городской почвы. Гигиена и санитария, 1951, № 4, стр. 19—24.

Корецкая З. М. Влияние лесных насаждений на количество микрофлоры в степной почве. Доповіді Акад. наук УССР, 1951, № 2, стр. 99.

Кощеева А. Х. К вопросу о совместном применении гранулированного суперфосфата и азотобактерина в условиях Кировской области. Сов. агрономия, 1951, № 8, стр. 94—96.

Кривых Ф. П. Почва с пара как бактериальное удобрение. Агробиология, 1951, № 3, стр. 114—121.

Купревич В. Ф. Биологическая активность почвы и методы ее определения. ДАН СССР, 1951, т. 79, № 5, стр. 863—866.

Курбатова-Беликова Н. М. Микробиологическая характеристика торфяных почв некоторых лесных насаждений Полесья. В кн.: «О лесах Полесья», 1951, стр. 141—152.

Лобанов Н. В. Микотрофность главнейших древесных и кустарниковых пород в условиях Европейской части СССР. Агробиология, 1951, № 4, стр. 49—62.

Малышкин П. Е. Влияние почвенных микроорганизмов на рост дуба. Почвоведение, 1951, № 5, стр. 280—288.

Малышкин П. Е. и Слесаренко А. Я. Характеристика микрофлоры обыкновенного чернозема Саратовской области. Ученые записки Саратовского гос. ун-та, 1951, т. 27, стр. 17—39.

Мачавариани М. З. Деятельность микроорганизмов в почвах полей севооборотов Гардабанской долины. Труды Ин-та полеводства Акад. Наук Груз. ССР, 1950, т. 5, стр. 67—83.

Мишустин Е. Н. Микрофлора почвы и образование микоризы у дуба. Агробиология, 1951, № 2, стр. 27—39.

Меграбян А. А. Активаторы и антагонисты клубеньковых бактерий эспарцета. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 185—186.

Меграбян А. А. Влияние фазы развития растений на активность и вирулентность клубеньковых бактерий. Микробиолог. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 166—167.

Найдина О. Г. Динамика микробных процессов при разложении травяного пласта в зависимости от сроков его вспашки. Сов. агрономия, 1951, № 8, стр. 42—46.

Николюк В. Ф. К вопросу об активности простейших в поливных почвах. Доклады Акад. Наук УзССР, 1951, № 6, стр. 33—36.

Панкова Н. А. О гумусообразовании в некоторых почвах лесостепного пояса Ферганского хребта. Труды Почвенного ин-та им. Докучаева АН СССР, 1950, т. 31, стр. 292—315.

Паносян А. К. Азотобактерии солончаковых почв. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 125—144.

Петросян А. П. и Карагулян С. А. Интенсивность клубенькообразования у различных видов и сортов одного и того же бобового растения. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 156—157.

Петросян А. П., Наринян Л. А. и Карагулян С. А. Влияние сроков сева на клубенькообразование у бобовых растений. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 176—178.

Письменный Н. Протравливание почвы, зараженной грибком. Лесное хоз-во, 1951, № 7, стр. 87.

Пономарева А. В. О повышении всхожести и энергии прорастания семян некоторых древесных пород посредством намачивания во взвесях триходермы и штаммов азотобактера хроококкум. Известия Акад. Наук Белорус. ССР, 1951, № 2, стр. 105—113.

Потехина Л. И. К микробиологической характеристике серых лесных почв Томской области. Труды Томского гос. ун-та им. В. В. Куйбышева, 1951, т. 114, стр. 101—104.

Пушкинская О. И. Материалы к характеристике микрофлоры почв дубовых лесов Теллермановского опытного лесничества. Труды Ин-та леса АН СССР, 1951, т. 7, стр. 158—179.

Рубенчик Л. И., Смалий В. Т. и др. Активность местных штаммов азотобактера из почв Украинской ССР. Мікробіолог. журнал, 1951, т. 13, № 2, стр. 3—20.

Самцевич С. А., Корецкая З. М. и Визирь А. П. Влияние лесной растительности на микрофлору черноземных почв Черного леса. Труды Ин-та лесоводства АН Укр. ССР, 1949, т. 1, стр. 152—161.

Санитарное исследование почвы населенных мест. (Физ. хим., бактериологические и гельминтол. методы). Под ред. Сысина, М., 1951, 136 стр.

Сидери Д. И. К биологии разложения органического вещества в почве. Агробиология, 1950, № 1, стр. 78—88.

Смалий В. Т. Исследование влияния микроорганизмов на прорастание семян и рост. кок-сагыза. Мікробіолог. журнал, 1951, т. 13, вып. 1, стр. 20—31.

Сопрунов Ф. Ф. К вопросу о родовой принадлежности хищных гифомицетов из почвы Туркменистана. Известия Туркм. филиала Акад. Наук СССР, 1950, № 5, стр. 88—90.

Танатин Б. Я. Влияние зимних морозов на азотобактер в ленинабадских почвах. Сообщ. Тадж. филиала Акад. Наук СССР, 1951, вып. 30, стр. 37—39.

Титов Т. Ф. Многолетний люпин как источник активных клубеньковых бактерий. Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 6, стр. 29—33.

Тризно С. И. и Вавуло Ф. П. Об эффективности бактериальных удобрений на торфяных и заболоченных почвах. Сборник научных трудов Ин-та мелиорации, водного и болотного хоз-ва Академии Наук Белорус. ССР, 1951, т. 1, стр. 132—153.

Федоров М. В. Влияние окислительно-восстановительных условий среды на фиксацию молекулярного азота Clostridium Pasteurianum. ДАН СССР, 1951, т. 79, № 4, стр. 673—676.

Федоров М. В. Влияние различных адсорбентов молекулярного азота и молекулярного кислорода на азотфиксирующую активность азотобактера. ДАН СССР, 1951, т. 79, № 5, стр. 883—886.

Федоров М. В. и Подъяпольская В. П. Влияние обеспеченности среды фосфором и калием на образование клубеньков и урожай бобового растения. ДАН СССР, 1950, т. 73, № 5, стр. 1081—1084.

Фомин А. Е. Бактериальная гранула. (Удобрительные свойства). В сб.: Краткий

отчет о научно-иссл. работе в 1950 г. (Ин-т земледелия Юго-Востока СССР), Саратов, 1951, стр. 117—124.
Фомин А. Е. Как использовать почвенные микроорганизмы для ускорения роста древесных пород. (Агротехн. консультация). Саратов, 1951, 5 стр.
Хлебников Н. И. Соотношение «почвенного белкового» и органического азота как санитарный показатель почв населенных мест. Гигиена и санитария, 1951, № 4, стр. 14—19.
Шилова Е. И. К биологической характеристике профиля подзолистой почвы. Почвоведение, 1951, № 9, стр. 536—548.
Шкляр М. З Взаимное влияние азотобактера и Clostridium Pasteurianum в смешанной культуре. Труды Всесоюзн. научно-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. II, вып. 2, стр. 148—153.

б) Бактериальные, вирусные и грибные заболевания растений

Абдулаев С. Г. Пероноспора лука в Азербайджане и меры борьбы с нею. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 49—57.
Авакян С. А. Бактериальное побурение кабачков. Микробиолог. сборник Академии Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 91—99.
Бельтюкова К. И. Бактериальные болезни, поражающие зернобобовые культуры в условиях УССР. Сообщение III. Бактериоз гороха. Мікробіолог. журнал, 1950, т. 12, № 2, стр. 47—58.
Богоявленский С. Г. и Геращенко С. К. Меры борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. Учебное пособие для слушателей трехлетних агротехнических курсов. Первый год обучения. Под ред. Г. А. Тищенкова, Воронеж, 1951.
Быстрова М. А. Изучение корнееда проростков и всходов свеклы в Ленинградской области. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 22—37.
Вакин А. Т. Грибные повреждения древесины лиственных пород в Теллермановском лесу. Труды Ин-та леса АН СССР, 1950, т. 3, стр. 107—132.
Владимирская М. Е. Значение pH среды в развитии Sclerotinia libertiana, возбудителя белой гнили овощных культур. Сборник работ Ин-та прикладной зоологии и фитопатологии, 1951, № 1, стр. 68—72.
Вовченко Д. П. Буроватость листьев дичек груш и меры борьбы с ней. Научные труды Укр. плод. ин-та, 1950, вып. 51, стр. 63—73.
Волков С. М. Болезни и повреждения клубней картофеля. Под ред. М. К. Хохрякова, Л., 1951, 64 стр.
Воронкович И. В. Дезинфекция семенников капусты. Сад и огород, 1951, № 4 стр. 42—43.
Галачьян Р. М. Поражаемость различных растений возбудителем бактериального рака томатов. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 79—86.
Галачьян Р. М. Экспертиза семян томатов против бактериального рака. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 101—113.
Гамбарян Г. С. и Саркисян А. А. О некоторых вопросах применения авиаметода борьбы против мильдью виноградной лозы. Известия Акад. Наук Арм. ССР, 1951, т. 4, № 5, стр. 473—478.
Гвритишвили С. П. К исследованию вредности бурой листовой ржавчины на сорте долис-пури. Труды Ин-та защиты растений, АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 17—24.
Гикашвили К. Г. К изучению болезней апельсина в Грузинской ССР. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 67—77.
Гиренко В. Н. и Голланд М. И. Применение люминесцентного анализа для выявления ранних стадий поражения плодов. Природа, 1951, № 6, стр. 83—84.
Головин П. Н. Пятнистость косточковых пород плодовых деревьев и меры борьбы с ней. Ташкент, 1950, 17 стр.
Горленко М. В. и Воронкевич И. В. Черная бактериальная пятнистость томатов. Доклады Всесоюзн. с.-х. акад. им. Ленина, 1950, № 3, стр. 24—29.
Гречкин В. П. Бактериальный рак тополей и роль насекомых в его распространении. Лесное хозяйство, 1951, № 6, стр. 69—71.
Гуляев. В. В. Протравливание семян сосны. Лесное хозяйство, 1951, № 7, стр. 53—54.
Давыдов П. Н. Бактериальный метод борьбы с мучнистой росой крыжовника. Сад и огород, 1951, № 6, стр. 34—36.
Дорожкин Н. А. и Клейнерман З. Я. Биотермический способ обеззараживания навоза от синхитриум эндобиотикум. (Из работ Минской научно-исследовательской станции по раку картофеля). Известия Акад. Наук Белорус. ССР, 1951, № 2, стр. 101—104.
Жукова К. П. Влияние кислотности и влажности почвы на поражаемость ростков сахарной свеклы возбудителями корнееда (Pythium de Baryanum H и Phoma betae. Fr.) Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 5, стр. 34—38.
Захарченко А. И. К методике отбора на устойчивость свеклы против кагатной гнили. «50 лет Верхнячской опытно-селекционной станции», 1950, стр. 321—330.
Зерова М. Я. и Ромашко Я. Д Сердцевинная гниль, как одна из причин

преждевременного опадения плодов яблони. Ботанічний журнал, 1950, т. 7, № 3, стр. 52—65.

Иванов А. Я. и Соколенко Н. Я. Вредители и болезни овощных, бахчевых культур и картофеля в Таджикской ССР и меры борьбы с ними. Сталинабад, 1951, 68 стр.

Игнатович Г. М. Tuphula trifolii Rostrup — паразит красного клевера. Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 4. стр. 37—42.

Инструкция по борьбе с вредителями, болезнями и сорняками культур хлопково-травопольного севооборота в Узбекской ССР на 1951 год. Ташкент, 1951, 100 стр.

Ишимов М. А. и Балл А. Н. Обзор распространения и развития вредителей и болезней сельскохозяйственных культур по Молдавской ССР за 1950 год и прогноз о возможности появления их в 1951 году. Кишинев, 1951, 40 стр.

Канчавели Л. А. и Донадзе В. З. К вопросу о передаче болезни «усыхания лимонов» — Phoma tracheiphila (Petri) Kantsch. et Gikasch — вегетативным путем. Труды Ин-та защиты растений, АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 41—50.

Карумидзе С. А., Новицкая Т. Н. и Гегенава Г. В. К применению некоторых комбинированных смесей в плодовых садах. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР. 1950, т. 7, стр. 159—169.

Киракосян А. В., Кочарян Т. П. и Хачатрян Г. А. Вирусные болезни кунжута. Микробиолог. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 115—121.

Кияшко П. И. О токсическом действии гриба Deuterophoma tracheiphila Petri, возбудителя инфекционного усыхания лимонов («мальсекко»). Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 176—177.

Клейнер Б. Д. Болезни миндаля, произрастающего в горных районах Узбекистана. Лесное хозяйство, 1951, № 9, стр. 81—84.

Клыков А. П. Головня сои. Краткие итоги научной работы за 3 года Всесоюзного научно-исслед. ин-та сои и клещевины, 1951, стр. 182—183.

Клыков А. П. Мероприятия по борьбе с семядольным бактериозом сои. Краткие итоги научной работы за 3 года Всесоюзн. научно-исслед. ин-та сои и клещевины, 1951, стр. 167—173.

Клюшник П. И. Грибные заболевания древесно-кустарниковых пород и способы борьбы с ними. Лес и степь, 1951, № 5, стр. 82—86.

Козлова В. И. Шелушение коры цитрусовых и меры, предупреждающие его распространение. Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 7, стр 36—40.

Костенецкая Л. О. Что читать о борьбе с вредителями и болезнями полезащитных лесных полос. Список рекоменд. литературы. М, 1951, 8 стр.

Красильников Н. А., Мирзабекян Р. О. и Аскарова С. Применение антибиотиков при некоторых заболеваниях растений. ДАН СССР, 1951, т. 79, № 6, стр. 1025—27.

Кулик С. А. Корневая гниль твердой пшеницы в Западной Сибири. Сов. агрономия, 1951, № 8, стр. 57—67.

Купревич В. Ф. Болезни растений ущелья Кондара. «Ущелье Кондара» (Опыт биологической монографии), 1951, стр. 401—419.

Лавров Н. Н. Болезни зерновых культур в Томской области и меры борьбы с ними. Труды Томск. гос. ун-та им. В. В. Куйбышева, 1951, т. 114, стр. 125—130.

Лавров Н. Н. Болезни плодово-ягодных культур Томской области и меры борьбы с ними. Труды Томск. гос. ун-та им. В. В. Куйбышева, 1951, т. 114, стр. 251—253.

Лисицина М. И. К биологии возбудителя клеверного рака Sclerotinia trifoliorum и меры борьбы с этой болезнью. Вопросы кормодобывания, 1951, вып. 3, стр. 262—269.

Любарский Л. В. Краснина древесины дальневосточных елей. Особенности развития лесного хозяйства Дальнего Востока, 1951, вып. 3, стр. 79—89.

Матвейчук А. В. и Шаблиовский В. В. Меры борьбы с главнейшими вредителями и болезнями полевых культур. Под ред. канд. с.-х. наук А. Е. Чумакова. Ворошилов-Уссурийский, 1951, 23 стр.

Мегалов А. А. Как бороться с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений. Саратов, 1951, 51 стр.

Мисевич З. А. Бактериоз ячменя. «50 лет Верхнячской опытно-селекционной станции», 1950, стр. 314—316.

Мисевич З. А. Вирусное заболевание озимой пшеницы. «50 лет Верхнячской опытно-селекционной станции», 1950, стр. 317—320.

Мисевич З. А. Исследование пероноспороза сахарной свеклы. «50 лет Верхнячской опытно-селекционной станции», 1950, стр. 303—313.

Михайловский В. С. Белая пятнистость листьев черной смородины и способы борьбы с ней. Сборник работ по защите растений (Укр. научно-исслед. ин-т плодоводства), 1951, вып. 32, стр. 160—166.

Михайловский В. С. К вопросу о борьбе с буроватостью листьев дичек груши. Сборник работ по защите растений (Укр. научно-исслед.. ин-т плодоводства), 1951, вып. 32, стр. 150—159.

Меры борьбы с вредителями и болезнями полевых культур в Новосибирской области. Новосибирск, 1951, 168 стр.

Морочковский С. Ф. Грибные болезни лесных пород юго-востока Украины. Ботанічний журнал, 1951, т. 8, № 2, стр. 47—51.

Московец С. Н. Морщинистая мозаика картофеля в Азербайджане. Известия Акад. Наук Азерб. ССР, 1951, № 7, стр. 27—37.

Натальина О., Панькова О. и Шестакова А. О розеточности яблони. Сад и огород, 1951, № 8, стр. 36—38.

Наумов Н. А. О проблеме заболеваний растений. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 115—124.

Наумова Н. А. Материалы к обоснованию допустимых норм зараженности семян пшениц к твердой головне. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 104—114.

Неофитова В. К. Болезни растений Мурманской области и меры борьбы с ними. Под ред. чл.-корр. Акад. Наук СССР проф. Н. А. Наумова. Мурманск, 1951, 57 стр.

Нилова В. П. и Егорова Г. Н. К биохимическому обоснованию устойчивости пшениц к твердой головне. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951. вып. 3, стр. 78—84.

Новикова Н. С. Источники и пути распространения инфекции при бактериальном увядании цветоносов кок-сагыза. Мікробіолог. журнал, 1951, т. 13, № 2, стр. 48—60.

Орлова А. А. Новое заболевание семян акации желтой. Лесное хозяйство, 1951, № 5, стр. 85—90.

Осипов А. Е. Опыты по отбору овса на иммунитет к пыльной головне. Селекция и семеноводство, 1951, № 3, стр. 75—77.

Перегончeнко Б. М. Основные вредители и болезни цитрусовых культур в Средней Азии и меры борьбы с ними. Сельское хозяйство Таджикистана, 1951, № 4, стр. 39—43.

Петерс А. Э. Эффективность опрыскивания бордосской жидкостью в борьбе с монилией вишен. Сборник работ по защите растений (Укр. научно-исслед. ин-т плодоводства), 1951, вып. 32, стр. 167—170.

Петрович С. Л. и Шустова Л. Н. К вопросу о микрофлоре арбузов. Гигиена и санитария, 1951, № 3, стр. 41—44.

Пивкина А. Ф. К вопросу анализа семян капусты на заболевания. Сад и огород, 1951, № 3, стр. 68—70.

Пивоварова Р. М. Тератологические изменения в цветках при махровости черной смородины. Ботанический журнал, 1950, т. 35, № 6, стр. 596—601.

Пименова А. С. Грибок тифуля при хранении капусты. Сад и огород, 1951, № 3, стр. 78.

Положенцев П. А. и Положенцев И. П. О прижизненном диагностировании состояния деревьев дуба посредством «инфузорной пробы». Природа, 1951, № 4, стр. 65—66.

Поляков И. М. и Калашников К. Я. Новые протравители для борьбы с твердой головней пшеницы. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 91—97.

Поляков И. М. и Шумакова А. А. Испытание токсических свойств гриба Deuterophoma tracheiphila Petri. (Возбудитель болезни лимона «мальсекко») Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 165—175.

Поляков И. М. и Шумакова А. А. Эффективность препарата динитроортокрезола в борьбе с инфекционным началом грибных заболеваний растений. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 178—190.

Попова М. П. и Соболева В. П. Вредители и болезни плодово-ягодных культур, М., 1951, 263 стр.

Порженко В. Испытание препаратов по борьбе с корневой гнилью. Хлопководство, 1951, № 3, стр. 44—46.

Пособие по борьбе с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. 7-е изд., испр., М. 1951, 472 стр.

Поспелов И. А. Химия в борьбе с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений. Научно-попул. лекция. М., 1951, 39 стр.

Потебня Н. А. Пятнистость листьев ясеня пушистого и акации желтой. Лесное хозяйство, 1951, № 7, стр. 32—33.

Растегаева Е. М. и Проничева Л. Л. К вопросу увядания картофеля в Ростовской области. Сад и огород, 1951, № 4, стр. 64—69.

Рекутин В. Ф. Вредители и болезни хлопчатника и люцерны и меры борьбы с ними в Таджикской ССР. Сталинабад, 1951, 60 стр.

Ромащенков Д. Д. Влияние высокой агротехники на устойчивость яровой пшеницы к болезням, вредителям и сорным растениям. Сборник работ Ин-та прикладной зоологии и фитопатологии, 1951, № 1, стр. 101—110.

Ромащенков Д. Д. Устойчивость яровой пшеницы к бурой листовой ржавчине в зависимости от количества первичных зародышевых корней и энергии кущения. Сборник работ Ин-та прикладной зоологии и фитопатологии, 1951, № 1, стр. 92—100.

Рубин Б. А. и Перевязкина Л. М. Роль дубильных веществ в явлениях устойчивости хлопчатника к вилту. ДАН СССР, т. 79, № 2, стр. 303—306.

Сабурова П. В. Физиолого-анатомическое обоснование повышения устойчивости моркови к склеротинии под влиянием минерального питания. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 38—48.

Савздарг Э. Э. и Трофимович А. Я. Борьба с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. (Учебн. пособие). М. 1951. 94 стр.

Савздарг Э. Э. и Трофимович А. Я. Борьба с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. (Учебн. пособие. Переработ. и пополнено применительно к условиям Молдав. ССР). Кишинев. 1951. 83 стр.

Савздарг Э. Э. и Трофимович А. Я. Борьба с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. (Учебн. пособие). Алма-Ата. 1951. 81 стр.

Сазонов П. В. Опыт применения авиаопрыскивания суспензией коллоидной серы посевов пшеницы для защиты их от поражения бурой ржавчиной. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 98—103.

Сакварелидзе Н. А. Болезни дынь и арбузов в условиях Грузии. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 141—158.

Сильвестров А. Д. Использование горячего воздуха в борьбе с домовыми грибами. Труды Ин-та леса АН СССР, 1950, т. 6, стр. 145—161.

Сладкомедова А. И. Круглолистность картофеля. Труди Інституту генетики і селекції, 1951, т. 1, стр. 139—149.

Соколовская Р. Е. Повышение устойчивости картофеля к заболеванию фитофторой. Сборник работ Ин-та прикладной зоологии и фитопатологии, 1951, № 1, стр. 87—91.

Софян Л. А. Полегание (фузариоз) сеянцев в питомниках северных районов Армении и меры борьбы с ним. Известия. Акад. Наук Арм. ССР, 1951, т. 4, № 6, стр. 543—553.

Степанов К. М. О типах поражения лимонов инфекционным усыханием («мальсекко»). Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 143—152.

Таратунина О. И. Меры борьбы с усыханием ветвей яблонь. Доклады Акад. Наук Уз. ССР, 1951, № 5, стр. 32—34.

Тетеревникова-Бабаян Д. Н. и Авакян С. А. Бактериальная гниль семенников лука в Армянской ССР. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР. 1950, вып. 5, стр. 65—77.

Тропова А. Т. Сортовые различия яровых пшениц в отношении поражения зерна Helminthosporium sativum P. K. et B («черный зародыш»). Сборник работ Ин-та прикладной зоологии и фитопатологии, 1951, № 1, стр. 73—86.

Тупеневич С. М. Повышение устойчивости всходов столовой свеклы к возбудителям корнееда выращиванием семян в местных условиях. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 3—21.

Указания по применению системы мероприятий по борьбе с вредителями и болезнями в плодово-ягодных насаждениях средней и северной зон Европейской части Союза. М. 1951, 20 стр.

Успенская Н. В. Вредители и болезни сельскохозяйственных культур. Лекция для трехлетних агротехн. курсов по массовой подготовке колхоз. кадров без отрыва от производства. Первый год обучения. (Лекция 15). Ташкент. 1951, 30 стр.

Федоринчик Н. С. Инфекционное усыхание («мальсекко») лимонов и обоснование мероприятий по борьбе с этим заболеванием. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 125—142.

Федоров С. М. Вредители и болезни древесных насаждений парка Железноводского курорта. Материалы по изучению Ставропольского края, 1950, вып. 2—3, стр. 85—101.

Фиалковская Е. А. Пути оздоровления люцерны от главнейших воздушно-переносных болезней. Труди Інституту генетики і селекції, 1951, т. I, стр. 151—180.

Хазарадзе Е. П. и Цакадзе Т. А. Черный рак яблони и меры борьбы с ним. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 107—124.

Харкина Г. А. Бактериальный ожог плодовых деревьев. Сад и огород, 1951, № 6, стр. 36—38.

Цервадзе Ш. И. Влияние климатических условий на распространение усыхания («мальсекко») цитрусовых. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 57—65.

Чантурия Н. Н. и Кикачейшвили З. Н. Результаты предварительных опытов по хемотерапии и искусственной иммунизации лимонов («мальсекко»). Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 51—56.

Черемисинов Н. А. Мичуринское учение — основа мероприятий по борьбе с болезнями кок-сагыза. Природа, 1951, № 6, стр. 30—38.

Чумаков А. Е. Биологический метод обеззараживания почвы от возбудителя корневой гнили пшеницы Helminthosporium sativum P. K. et B. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 58—68.

Шалышкина В. И. О жизнестойкости гриба Deuterophoma tracheiphila Petri,

вызывающего инфекционное усыхание лимонов («мальсекко»). Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, № 3, стр. 153—164.
Шварцман С. Р. Грибные болезни древесных пород Казахстана и меры борьбы с ними. Алма-Ата. 1950. 112 стр.
Шевченко Ф. П. и Гусельников А. А. Гранозан в борьбе с болезнями подсолнечника. Селекция и семеноводство, 1951, № 9, стр. 73—74.
Шипинова С. И. Пятнистое увядание томатов в Азербайджане. Сад и огород, 1951, № 5, стр. 77—78.
Шишкина А. К. К изучению болезней декоративных растений в Грузии. Труды Ин-та защиты растений, АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 201—219.
Шишкова М. И. Оценка эффективности различных методов применения бордосской жидкости в борьбе с паршой яблони. Сборник работ по защите растений (Укр. науч.-исслед. ин-т плодоводства), 1951, вып. 32, стр. 145—149.
Шишкова М. И. Эффективность новых фунгисидов в борьбе с паршой яблони. Сборник работ по защите растений (Укр. науч.-исслед. ин-т плодоводства), 1951, вып. 32, стр. 136—144.
Шошиашвили И. И. и Кирмелашвили Н. С. К вопросу о вредоносности пероноспоры лука. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 179—188.
Шошиашвили И. И. и Кирмелашвили Н. С. Некоторые вопросы изучения гнили баклажан. Труды Ин-та полеводства Акад. Наук Груз. ССР, 1950, т. 5, стр. 137—146.
Шумиленко Е. П. Опыт подкормки ячменя в борьбе с полосчатой пятнистостью. Труды Всесоюзн. ин-та защиты растений, 1951, вып. 3, стр. 74—77.
Щеголев В. Н. и Доброзракова Т. Л. Защита полевых и овощных культур от вредителей и болезней. (Учеб. пособие). М.— Л., 1951, 80 стр.
Эристави Е. М. и Исарлишвили С. Я. Результаты предварительных опытов по испытанию биологического метода борьбы против некоторых возбудителей корневых заболеваний. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1950, т. 7, стр. 189—199.

в) Микробиология кормов

Абрамов М. Д. Кормовые дрожжи как витаминный и белковый корм для пушных зверей. Каракулеводство и звероводство, 1951, № 3, стр. 42—48.
Березовский А. А. Осеннее силосование. Кормовая база, 1951, № 8, стр. 44—47.
Березовский А. А. Приемы приготовления специальных силосов. Сов. зоотехния, 1951, № 6, стр. 62—67.
Голикова А. А. О взаимоотношении молочнокислых и гнилостных бактерий при силосовании. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 89—97.
Зайцев К. П. К вопросу о силосовании в буртах. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 98—105.
Зафрен С. Я. Силосование без силосных сооружений. Кормовая база, 1951, № 7, стр. 46—50.
Захарченко И. М. Силосование кормов. Сталино, 1951, 103 стр.
Инструкция по силосованию кормового картофеля, 1951, 6 стр.
Лысогоров В. И., Салтыков Ф. И. и Вербич О. А. Концентрированный силос. Сов. зоотехния. 1951, № 8, стр. 64—69.
Макарова М. М. и Голикова А. А. Микробиологические процессы при силосовании неизмельченной растительной массы и пути управления ими. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 74—88.
Марков И. С. Силосование кормов в условиях Крайнего Севера. М., 1951, 36 стр.
Примерные правила силосования кормов. Под ред. проф. А. А. Зубрилина. М., 1951, 43 стр.

Пищевая и техническая микробиология

Алексеев В. А. Опыт применения буферных растворов для мочки льна. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 49—57.
Ахинян Р. М. К вопросу интенсивности сбраживания различных сахаров дрожжами. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 49—50.
Бычковская А. Л. Факторы, обеспечивающие ускоренную анаэробную регенерацию льняной мочильной жидкости. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. II, вып. 2, стр. 38—48.
Голиков В. Г. Микрофлора мочки кенафа. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 58—66.
Друблянец Э. Э. Дрожжевая микрофлора гидролизных заводов. Сборник трудов Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности, 1950, т. 3, стр. 130—140.
Друблянец Э. Э. Влияние азотистых прибавок на аэробную мочку льна орошением. Труды Всесоюзн. научн.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 67—73.

Друблянец Э. Э. и Фроловская Е. Б. Распространение бактериальной микрофлоры на гидролизных заводах. Сборник трудов Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности, 1950, т. 3, стр. 141—155.

Использование микроорганизмов для первичной переработки сельскохозяйственного сырья. (Сборник статей). Под ред. д-ра с.-х. наук Г. Л. Селибера и канд. биол. наук В. Н. Бересневой. М.— Л. 1951. 160 стр.

Калюжный М. Я. и Карасик Е. Л. Состояние воды и регулирование внутриклеточного давления у дрожжей на различных средах. Сборник трудов Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности, 1950, т. 3, стр. 121—129.

Кирьялова Е. Н. и Пумпянская Л. В. Применение плодово-ягодных дрожжей в виноделии. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 125—129.

Кирьялова Е. Н. и Шкляр М. З. Дрожжевая микрофлора плодово-ягодных соков. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951. т. 11, вып. 2, стр. 106—115.

Кирьялова Е. Н. и Шкляр М. З. Смешанные культуры дрожжей в плодово-ягодном виноделии. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 116—124.

Крутикова Л. П. Сухие закваски из культуры Clostridium felsineum для улучшения мочки льна. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 27—37.

Крючкова А. П. Активирование размножения пентозных дрожжей в древесных средах. Сборник трудов Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности, 1950, т. 3, стр. 101—109.

Крючкова А. П. и Немцова Н. П. Утилизация компонентов гидролизной барды пентозными дрожжами. Сборник трудов Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности, 1950, т. 3, стр. 110—120.

Маркова З. С. Влияние Saccharomyces ellipsoideus на рост и активность Clostridium felsineum. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 12—19.

Маркова З. С. Разработка способа внесения дрожжей при применении Clostridium felsineum в качестве закваски для улучшения мочки льна. Труды Всесоюзн науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 20—26.

Машкова А. С. К вопросу определения кишечной палочки в пиве. Гигиена и санитария, 1951, № 8, стр. 53—54.

Миронова К. М. Влияние на процесс мочки и качество волокна кенафа поражения его стеблей Botrytis и другими грибами. Центр. науч.-исслед. ин-т лубяных волокон, 1950, т. 4, стр. 19—25.

Панкова Ф. и Шкляр К. Методы ускоренного технo-химического и бактериологического контроля яичного меланжа. Мясная индустрия СССР, 1950, № 6, стр. 76—78.

Рубенчик Л. И. Микроорганизмы как фактор коррозии бетонов и металлов (Акад Наук Укр. ССР. Ин-т микробиологии). Киев. 1950. 65 стр.

Саруханян Ф. Г. Дрожжи хлебных заквасок некоторых районов Армянской ССР. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР, 1950, вып. 5, стр. 21—34.

Саруханян Ф. Г. и Севоян А. Г. О микрофлоре хлебных заквасок и теста. Микробиол. сборник Акад. Наук Арм. ССР., 1950, вып. 5, стр. 63—64.

Селибер Г. Л. Биологическая мочка лубяных растений и микрофлора мочки. Труды Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 11, вып. 2, стр. 5—11.

Теплицкая А. М. Микрофлора соленой лососевой икры. Известия Тихоокеанского науч.-исслед. ин-та рыбного хоз-ва и океанографии, 1951, т. 34, стр. 215—221.

Чернобыльская М. Н. и Слинякова И. Б. К методу обнаружения инфекции в ацетоно-бутиловом производстве. Наукові записки Київськ. держав. університ. ім. Т. Т. Шевченка, 1950, т. 9, вип. 8, стр. 145—149.

Микробиология воздуха, воды, лечебных грязей и горных пород

Анисимова Н. В. Диатомовые болотных и озерных отложений Кокчетавской области Казахской ССР. Труды Лаборатории сапропелевых отложений, 1951, вып. V, стр. 53—80.

Бершова О. И. Микробиологическое исследование Среднего Днепра. Сообщение IV. Мікробіолог. журнал, 1951, т. 13, № 1, стр. 5—19.

Вотинцев К. К. Биогенные элементы в грунтовых растворах оз. Байкал. ДАН СССР, 1950, т. 75, № 1, стр. 63—66.

Глотов В. А., Дуда Г. Р., Суханов А. Ф. Микрофлора воздуха в клиниках Омского медицинского института им. М. И. Калинина. Труды Омского мед. ин-та им. М. И. Калинина, 1951, № 6, стр. 103—111.

Кантор Д. И. О динамике уменьшения числа микробов в воздухе закрытых помещений под влиянием естественных факторов. Гигиена и санитария, 1951, № 8, стр. 11—15.

Киченко М. Г. Бактериальный аэропланктон жилых помещений. Гигиена и санитария, 1951, № 5, стр. 5—9.

Кузнецов С. И. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика процессов минерализации органического вещества в озерах различной степени солености. 2. Микробиологическая характеристика процессов распада органического вещества в иловых отложениях (Микробиологические исследования озер Кокчетавской, Курганской и Тюменской областей). Труды Лаборатории сапропелевых отложений (Ин-т леса АН СССР), 1950, вып. 4, стр. 5—28.

Кузнецов С. И. Сравнительная характеристика биомассы бактерий и фитопланктона в поверхностном слое воды среднего Байкала. Труды Байкальской лимнол. станции, 1951, т. 13, стр. 217—224.

ХРОНИКА

ОБЪЕДИНЕННАЯ НАУЧНАЯ СЕССИЯ ПО ВОПРОСАМ БИОЛОГИИ И СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА АКАДЕМИИ НАУК СССР И АКАДЕМИИ НАУК ЛАТВИЙСКОЙ, ЛИТОВСКОЙ И ЭСТОНСКОЙ ССР

В период 22—26 октября с. г. в Риге состоялась объединенная научная сессия Отделения биологических наук Академии Наук СССР и Академий наук Прибалтийских республик по вопросам биологии и сельского хозяйства.

Сессия была открыта Председателем Президиума Верховного Совета Латвийской ССР проф. А. М. Кирхенштейном, приветствовавшим собравшихся делегатов и указавшим на ответственные задачи, стоявшие перед ними. Затем с обстоятельным докладом о деятельности Отделения биологических наук АН СССР и перспективах координации биологической науки выступил заместитель академика-секретаря Отделения биологических наук АН СССР академик В. Н. Сукачев.

Отчетные доклады о деятельности академий наук Прибалтийских республик зачитали: Президент АН Латвийской ССР Я. В. Пейве, Президент АН Эстонской ССР И. Г. Эйхфельд, академик-секретарь Латвийской АН А. А. Шмидт и академик-секретарь АН Литовской ССР В. Л. Лашас.

На пленарных заседаниях был заслушан ряд общетеоретических докладов выдающихся ученых Советского Союза. Особый интерес вызвали сообщения действительного члена АН Латвийской ССР проф. А. М. Кирхенштейна на тему «Морфология микробов и механизм действия антибиотиков», акад. Е. Н. Павловского — «Природные резерваты вредителей сельского хозяйства и здоровья человека», академика К. И. Скрябина — «Принципы и методы борьбы с гельминтозами», академика В. Н. Сукачева — «О комплексном методе изучения биологических и физико-географических явлений в народнохозяйственных целях», действительного члена АН Латвийской ССР Р. В. Пейве — «Недостаточность микроэлементов в почве и ее отрицательное значение для народного хозяйства» и члена-корр. АН СССР Э. А. Асратяна — «Учение Павлова — основа медицины». Живой интерес собрание проявило и к другим сообщениям, сделанным на пленарных заседаниях.

Доклады специализированного профиля были заслушаны на заседаниях двух выделенных секций: 1) повышения урожайности и 2) зоологии и повышения продуктивности животноводства.

В компетенцию первой секции входили вопросы, связанные с повышением плодородия почв и характеристикой их агрономических свойств, применением удобрений, лесонасаждением, изучением почвенных микроорганизмов и т. д.

В заслушанных докладах отмечалась полная возможность получения на подзолистых почвах высоких и устойчивых урожаев. Такие урожаи, однако, требуют развития всех элементов травопольной системы земледелия.

Указывалось, что перед наукой и практикой стоит задача усиления положительного влияния трав на структуру почвы и задача сделать его более длительным. Здесь прежде всего должно быть учтено указание акад. Т. Д. Лысенко о повышении урожая трав, без чего травяное поле не может выполнять свою роль в севообороте.

На большом фактическом материале было проанализировано действие на урожай различных приемов агротехники, а также минеральных и органических удобрений.

Всего на секции повышения урожайности было сделано около 25 докладов. Специальное заседание было посвящено вопросам почвенной микробиологии. На заслушанных докладах мы остановимся ниже.

На секции зоологии и повышения продуктивности животноводства разбирались такие вопросы, как анализ путей улучшения пород сельскохозяйственных животных. изучение методов племенного подбора в животноводстве, выяснение способности к раздою и откорму крупного рогатого скота, изучение орнито-энтомофауны Прибалтики, установление кормовых и витаминных ресурсов и т. д. На данной секции состоялось около 20 докладов.

Для нас особый интерес представляют сообщения, касающиеся тех или иных вопросов микробиологии. Основное их содержание кратко излагается ниже.

Как уже отмечалось, действительный член АН Латвийской ССР А. М. Кирхенштейн сделал доклад на тему «Морфология микробов и механизм действия антибиотиков». Он отметил, что клеточные бактериальные формы содержат в своей структуре гранулярные и вирусные составные части. Последние могут освобождаться от клеточных форм после их бактериолиза. При благоприятных условиях среды неклеточные формы вновь превращаются в обычные бактериальные клетки. Антибиотические и химиотерапевтические средства, уничтожая клеточные формы бактерии, не

всегда разрушают их неклеточные особи. Последний момент для лечебной практики может представлять несомненный интерес.

В докладе доктора биологических наук Е. Н. Мишустина «Комплекс Докучаева — Костычева — Вильямса и почвенная микробиология» была освещена роль микробиологического фактора в формировании почвы и почвенном плодородии. Отмечалось, что при внедрении комплекса Докучаева — Костычева — Вильямса микробиологи могут оказать значительное содействие сельскому хозяйству. Это касается работ по полезащитному лесоразведению, установлению агрохимических и агротехнических мероприятий, борьбе с вредителями сельского хозяйства и т. д. Высказанные положения докладчик иллюстрировал рядом примеров.

Кандидат с.-х. наук А. Я. Калниньш сделал сообщение на тему «Распространение и активность клубеньковых бактерий клевера в почвах Латвийской ССР». В докладе отмечалось, что в почвах, наряду с активными расами клубеньковых бактерий (клевера), встречаются расы малоактивные и неактивные. Последние чаще всего встречаются на легких песчаных и супесчаных почвах.

При одновременном заражении растений двумя расами клубеньковых бактерий клубеньки образуются либо обеими расами, либо преимущественно одной из них, обладающей большей вирулентностью.

При изготовлении нитрагина целесообразно использовать не только высокоактивные по признаку фиксации азота культуры клубеньковых бактерий, но и вирулентные штаммы, способные доминировать над малоактивными расами при образовании клубеньков

Научный сотрудник И. И. Тарвидас прочитал доклад на тему «Микробиологическая характеристика основных типов почв Литовской ССР». Он сообщил результаты изучения дерново-оподзоленных дерново-глеевых оподзоленных и дерново-карбонатных оподзоленных почв.

В докладе действительного члена АН Латвийской ССР А. И. Калниньш «Возможности повышения производительности лесов Латвийской ССР» были детально разобраны подходы к рациональному ведению лесного хозяйства. Отмечалось, между прочим, что при облесении песков и бедных почв с успехом можно применять микоризные компосты.

Ряд интересных докладов о выживаемости патогенных микроорганизмов в почве сообщил действительный член Эстонской ССР А. П. Киур-Муратов в докладе «Микробный антагонизм и использование его в борьбе с инфекционными заболеваниями с.-х. животных».

Отмечалось, что естественные процессы самоочищения почвы и воды протекают медленно и поэтому не отвечают задачам борьбы с болезнями в животноводстве. Докладчику удалось доказать, что самоочищение почвы от патогенных микроорганизмов можно ускорить внесением органических удобрений, посевом трав и приемами бактеризации (применением азотогена). Суммарное действие этих факторов сильнее, чем каждого в отдельности взятого.

Недоучет жизнеспособности патогенных микроорганизмов в почве приводит к распространению болезней среди пасущегося на полях скота.

Большое значение в борьбе с кишечными инфекционными заболеваниями молодняка Киур-Муратов придает профилактическим мероприятиям, приводящим к освобождению организма стельных животных — бациллоносителей — от возбудителей. В этих целях целесообразно использовать ацидофильные культуры.

Перед закрытием сессии ее участники приняли ряд решений, обеспечивающих координационную работу Академии Наук СССР и Академии Наук Прибалтийских республик, а также внедрение в практику полученных результатов исследовательской работы.

С огромным воодушевлением было принято приветствие товарищу Сталину.

Е. Н. Мишустин

ПАМЯТИ ПРОФЕССОРА С. И. ВАНИНА

Во время своего юбилейного чествования 10 февраля 1951 г. скоропостижно скончался выдающийся фитопатолог и древесиновед, заслуженный деятель науки и техники, лауреат Сталинской премии доктор сельскохозяйственных наук проф. Степан Иванович Ванин.

Смерть его явилась тяжелой утратой для фитопатологов, ботаников, лесоводов и лесотехнологов, многие из которых в течение ряда лет работали с ним рука об руку или являлись его учениками и последователями.

С. И. Ванин — ученик и современник таких крупных наших ботаников и лесоводов, как Г. Ф. Морозов, Г. Н. Высоцкий, А. А. Ячевский, В. Н. Сукачев, Л. А. Иванов и др.

С. И. Ванин был хорошим примером ученого Сталинской эпохи, посвятившего всего себя служению науке и народу. До самого последнего дня своей жизни он интенсивно работал, несмотря на плохое здоровье.

Заслуги С. И. Ванина были оценены правительством, которое в 1948 году присвоило ему почетное звание заслуженного деятеля науки и техники РСФСР и в 1949 г. присудило Сталинскую премию. За 35 лет научно-педагогической и общественной деятельности С. И. Ванин, отличавшийся большими способностями и трудолюбием, оставил в своей области науки глубокий след.

Им опубликовано около 200 работ, в числе которых много учебников, учебных пособий, справочников, определителей, монографий и оригинальных исследований.

Специалисты по лесной фитопатологии, древесиноведению, анатомии растений, консервированию древесины, художественной обработке древесины в своей повседневной работе постоянно обращаются за всевозможными вопросами и справками к трудам С. И. Ванина.

О незаурядности этого ученого свидетельствует и то, что он создал и возглавил такие две крупные и важные в системе лесного образования научные дисциплины, как лесная фитопатология и древесиноведение, организовав по ним кафедры и написав первые учебники, вышедшие несколькими изданиями.

Степан Иванович удачно сочитал в себе знания и интересы биолога и технолога. Это может найти объяснение отчасти в том, что после окончания в 1910 г. Касимовского (Рязанской губ.) среднего механико-технического училища он затем поступил в Петербургский лесной институт, который окончил в 1915 г. со званием ученого лесовода 1 разряда.

Первым научным трудом С. И. Ванина была его дипломная работа «Паразитные и сапрофитные грибы древесных пород в различных насаждениях Касимовского уезда Рязанской губернии», опубликованная в 1915 г. и своим оригинальным содержанием быстро создавшая автору известность. Вскоре после ее появления С. И. Ванин был приглашен в качестве ассистента в Главный ботанический сад, затем в Воронежский сельскохозяйственный институт (1917), в Петроградский лесной институт (1922). Педагогическая работа Степана Ивановича всегда была связана с исследовательской. Круг вопросов, исследованных и освещенных им, весьма разнообразен. По фитопатологии наиболее крупные его труды: «Гниль дерева, ее причины и меры борьбы», «Методы исследования грибных болезней леса и повреждений древесины», «Болезни сеянцев и семян лесных пород», «Синева древесины и меры борьбы с нею», «Материалы по изучению окраски древесины, вызываемой грибами и химическими причинами», «Домовые грибы, их биология, диагностика и меры борьбы» и некоторые другие. Особый интерес и ценность представляют разделы работ, связанные с диагностикой гнилей и ненормальных окрасок дервесины методом чистых культур грибов. Совместно с Катерфельдом им впервые в русской литературе даны подробные описания основных дереворазрушающих грибов в чистых культурах и составлен ключ для их определения. С. И. Ваниным разработан метод испытания антисептиков как в искусственных условиях, так и на древесине, много внимания им уделено систематике и биологии грибов синевы и техническим свойствам засиневшей древесины.

Последнее время С. И. Ванин уделял внимание вопросам диагностики грибов, образующих микоризу древесных пород и вопросам методики анализа микоризности почвы, что имеет важное значение в практике полезащитного разведения. Кроме того, он с соавторами составил «Определитель болезней древесных пород и кустарников, применяемых для полезащитных насаждений».

Следует отметить, что одной из характерных черт С. И. Ванина как ученого было умение во-время откликнуться на нужды и запросы нашего народного хозяйства — оказать помощь в разрешении очередных практических задач.

В области древесиноведения и анатомии растений проф. С. И. Ваниным также проведена весьма разносторонняя работа. Им изучено и описано анатомическое строение древесины многих древесных пород Кавказа, Крыма, Средней Азии, Азербайджана, составлен определитель древесины пород СССР по макро- и микроскопическим признакам и дан первый определитель древесных пород по строению коры. Широко используется разработанная С. И. Ваниным методика описания строения древесины.

Часть работ С. И. Ванина посвящена изучению водопроводности, гигроскопичности и газопроводности древесины. Исследованы в научных и практических целях физико-механические свойства древесины в начальных стадиях гнилостного поражения.

Многогранность и плодотворность характерна также и для общественной деятельности С. И. Ванина. Он был активным членом многих научных обществ, членом ученых советов нескольких институтов.

С 1939 до 1950 г. он бессменный депутат Ленинградского городского совета депутатов трудящихся.

В Степане Ивановиче, вышедшем из простой крестьянской среды, поражала не только огромная образованность специалиста, но также и его глубокая осведомленность, в вопросах истории, искусства и литературы. Он был человеком большой души, отличался исключительной скромностью, мягкостью и доброжелательностью к своим ученикам и сотрудникам. При всей своей занятости и плохом здоровье Степан Иванович всегда находил время и силы, чтобы помочь советом и делом всем, кто к нему обращался. Даже в моменты, когда он чувствовал себя очень плохо, он не только не жаловался но и не терял бодрости духа и жизнерадостности

В памяти знавших его людей Степан Иванович Ванин оставил самые хорошие воспоминания и теплые чувства.

Э. А. Оганова

СОДЕРЖАНИЕ

А. А. Имшенецкий. О накоплении биомассы в культурах складчатой формы Saccharomyces cerevisiae 3

Я. И. Палий. Рост микроорганизмов в условиях пониженных атмосферных давлений 14

Н. А. Красильников. Антибиотические свойства пади 19

Ф. Ф. Сопрунов и Н. Я. Сопрунова. О взаимоотношениях между хищными почвенными грибами и нематодами 23

А. С. Заславский. О солелюбивых тионовокислых бактериях соляных водоемов 31

В. А. Алексеев. Редукция сульфатов возбудителями мочки льна 36

Б. Г. Вайнберг, Л. А. Бланк и Л. Е. Эйдлер. Антагонистические отношения между некоторыми микробами на плотной питательной среде . . . 42

К. М. Степанов и В. И. Шалышкина. Плоды и семена лимона — источники заразного начала инфекционного усыхания („мальсекко") 48

Л. П. Старыгина. Bac. polymyxa как возбудитель мягкой гнили 52

Е. А. Рукина и В. И. Бирюзова. Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток 60

Л. П. Крутикова. Сравнительная оценка питательных сред для производства культур бактерий Исаченко — Данича 66

Е. И. Квасников. О некоторых принципах селекции микроорганизмов для производства 71

И. М. Рябченко. О методе непрерывной селекции микроорганизмов из производства 77

Н. И. Гамова-Каюкова. О селекции производственно-ценных микроорганизмов для производства пищевых продуктов 83

З. Э. Беккер. О методике селекции грибов в условиях производства 87

Е. Н. Кирьялова. К статье В. И. Кудрявцева «О непрерывной селекции микроорганизмов из производства» 92

Н. Н. Сушкина. Современные данные по экологии Azotobacter chroococcum (Обзор) 96

М. И. Прохоров. Роль русских ученых в открытии и разработке бактериологического метода борьбы с вредными грызунами 109

Н. С. Егоров. О наследственном антагонизме у бактерий (Из работ И. Г. Шиллера) 116

Критика и библиография 121

Хроника 133

Т01357 Подписано к печати 22.II.1952 Печ. л. 11,64 + 4 вклейки

Уч.-изд. л. 14,2 Формат бум. 70×108 1/16. Бум. л. 4 1/4. Тираж 5700 экз. Заказ 4

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Статьи, представляемые в редакцию, должны быть тщательно отредактированы в рукописи. Сообщаемые в статье результаты экспериментальных исследований должны быть изложены кратко и ясно, а в конце статьи должны быть выводы. Никакие исправления в корректуре против рукописи не допускаются.

Рукопись, в том числе и литература, должна быть четко переписана на машинке на одной стороне листа писчей бумаги с двумя интервалами. Объем представляемых работ, включая таблицы и литературу, не должен превышать 14—15 страниц, перепечатанных на машинке. С левой стороны листа должны быть оставлены чистые поля (3—4 см). В редакцию посылается первый, перепечатанный на машинке, экземпляр. Страницы рукописи должны быть перенумерованы единой нумерацией, включая основной текст, таблицы, литературу и т. д. Обозначение за одним номером нескольких страниц (например 21а, 21б) не допускается. В конце рукописи обязательно должны быть собственноручная подпись автора, название учреждения, где выполнена работа, и точный его адрес.

Таблицы должны находиться в соответствующих местах рукописи и в тексте на них должны быть ссылки. Подзаголовки таблиц должны быть краткими, но их необходимо писать полностью, без сокращений.

Количество иллюстраций должно быть минимальным, они должны быть совершенно отчетливыми и выполнены тушью на белой бумаге или на кальке. На полях рукописи указывается место рисунка, а в тексте на него дается ссылка. Фотографии печатаются только при абсолютной их необходимости, причем они должны быть контрастными и в черных тонах. На микрофотографиях должно быть указано увеличение, при котором произведен снимок.

На обороте каждого рисунка должны быть написаны простым карандашом: фамилия автора, заглавие статьи, номер рисунка и страница рукописи, к которой он относится. Подписи к иллюстрациям даются на особом листе с указанием номеров рисунков.

Статья должна содержать результаты собственных исследований автора и поэтому в ней разрешается приводить только очень краткие ссылки на литературу.

Приводить названия цитируемых работ в тексте статьи или в сносках нельзя. Вся литература должна быть сведена в особый список, помещаемый в конце статьи. Перечень литературы приводится в алфавитном порядке авторов и нумеруется; для русских и иностранных работ составляются самостоятельные алфавитные списки. Ссылаться на неопубликованные в печати работы и устные сообщения не разрешается.

Отдельные работы одного и того же автора располагаются в хронологической последовательности; в случае наличия у автора нескольких работ, изданных в одном году, они нумеруются строчными буквами алфавита (напр. 1927a; 1927b, 1927c).

В списках литературы должны даваться следующие данные: а) фамилия, б) инициалы, в) название работы, г) сокращенное общепринятое название журнала (для книги — место издания), д) том, страница и год.

Фамилии иностранных авторов при цитировании в статье в первый раз даются как на русском, так и на иностранном языке, а при дальнейших ссылках только на русском языке. Одновременно с фамилией цитируемого автора в скобках указывается его порядковый номер по списку литературы. Помещение в списке литературы всех цитируемых в статье работ — обязательно. Приводить в списке литературы работы, не упоминаемые в тексте, не разрешается.

Сокращение слов, имен, названий, как правило, не допускается. Разрешаются лишь общепринятые сокращения — различных мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все меры должны даваться в метрической системе, а температура по шкале Цельсия.

Рукописи, оформленные без соблюдения настоящей инструкции, будут возвращаться авторам для исправления.

Если автор в связи с вносимыми исправлениями задержит рукопись свыше одного месяца, статья будет считаться в дальнейшем как поступившая вновь.

Редакция.